

JOANA ANDREIA SILVA MARQUES

**PESQUISA DE RODENTICIDAS EM CORUJAS-DAS-
TORRES (*Tyto alba*)**

Orientador: Prof. Doutor. Álvaro Lopes

Presidente: Profª Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Profª Doutora Maria do Rosário Beja Gonzaga Bronze (Faculdade de Farmácia - UL)

Vogal: Prof. Doutor Eduardo Marcelino

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

LISBOA

2017

JOANA ANDREIA SILVA MARQUES

PESQUISA DE RODENTICIDAS EM CORUJAS-DAS-TORRES (*Tyto alba*)

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Orientador: Professor Doutor Álvaro Lopes

Coorientador: Médico Veterinário Mestre em Biologia da Conservação Ricardo Brandão

Presidente: Profª Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Profª Doutora Maria do Rosário Beja Gonzaga Bronze (Faculdade de Farmácia - UL)

Vogal: Prof. Doutor Eduardo Marcelino

UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E TECNOLOGIAS
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2017

Agradecimentos

Quero agradecer em primeiro lugar aos meus pais pelo esforço e pela dedicação. De seguida quero também agradecer ao meu namorado João Rodrigues e à minha família pela dedicação e paciência. Obrigada também às minhas colegas Andreia, Catarina, Inês, Madalena e Rita pela amizade e companheirismo.

Por fim agradeço ao professor Álvaro Lopes pelo esforço e pelo trabalho feito, ao Dr. Ricardo Brandão pelo apoio e fornecimento de dados, aos professores que me acompanharam até aqui, ao CERVAS e ao Departamento de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Lisboa que me receberam e facultaram todas as condições para o desenvolvimento desta tese (material de laboratório e biológico fornecido, acesso ao laboratório, etc.). Agradeço também o apoio dado pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. E por fim agradeço a quem esteve diretamente ou indiretamente envolvido na elaboração desta tese.

Resumo

O uso de pesticidas tornou-se uma opção dominante em todo o mundo para controlar infestações de roedores. Os rodenticidas podem envenenar espécies não-alvo seja diretamente- envenenamento primário- ou indiretamente- envenenamento secundário. Os rodenticidas têm a capacidade de inibir as redutases, principalmente a epóxido redutase, prevenindo a regeneração da vitamina K (que intervém na cascata de coagulação), funcionando como antagonistas da mesma, levando a que os fatores II, VII, IX e X da cascata de coagulação não sejam produzidos pois são dependentes desta, provocando hemorragias aos animais.

De outubro de 2015 a março de 2016 foram recolhidos 29 fígados (21 de Coruja-das-Torres (*Tyto alba*), 4 de Pato-Real (*Anas platyrhynchos*), 3 de Gaivota-de-Asa-Escura (*Larus fuscus*) e 1 de Guincho-Comum (*Larus ridibundus*)) e analisados para pesquisa da presença ou não de resíduos de rodenticidas. Das 21 corujas analisadas, em apenas 6 (28,57%) não foi detetado qualquer vestígio dos químicos. A taxa de resultados positivos foi de 71,43% (n=15) para a Coruja-das-Torres e de 100% (n=8) para as outras aves.

O uso de medidas de controlo destas substâncias é de extrema importância para evitar o aparecimento de resistências por parte dos animais que as consomem.

Palavras-chave: Rodenticidas, Coruja-das-Torres, Bromadiolona, Difenacume, Brodifenacume.

Abstract

The use of pesticides has become a recurrent option all around the world to control rodent outbreaks. Rodenticides may poison non-target species directly – primary poisoning – or indirectly – secondary poisoning. Rodenticides have the capacity to inhibit the reductases, mostly the epoxide reductase, preventing the vitamin K regeneration (which intervenes in the coagulation cascade). By operating as its antagonist, the rodenticides lead to factors II, VII, IX and X of the coagulation cascade not being produced because they are dependent on the previously mentioned vitamin, causing hemorrhages in the animals.

From October 2015 to March 2016 29 livers were collected: 21 from Barn Owl (*Tyto alba*), 4 from Mallard (*Anas platyrhynchos*), 3 from Lesser Black-backed Gull (*Larus fuscus*) and 1 from Black-headed Gull (*Larus ridibundus*) and all were tested for the presence of

second generation rodenticides (Bromadiolone, Difenacoum and Brodifenacoum). The rate of positives results was 71,43% (n=15) for the Barn Owl and 100% (n=8) for the other species.

The use of control measures of these rodenticide substances is extremely important as to avoid the emergence of resistances by the animals which consume them.

Keywords: Rodenticides, Barn Owl, Bromadiolone, Difenacoum, Brodifenacoum.

Abreviaturas, siglas e símbolos

%: percentagem

µg/g: micrograma por grama

ACT (Activated Clotting Time): Teste de tempo de coagulação

AFN: Autoridade Florestal Nacional

ALDEIA: Ação, Liberdade, Desenvolvimento, Educação, Investigação, Ambiente

ANA: Aeroportos de Portugal

ANTU: Alfa-Naftilo Tioureia

APTT (Activated Partial Thromboplastin Time): Tempo de ativação parcial da tromboplastina

CCF: Cromatografia de Camada Fina

CE: Comunidade Europeia

CEE: Comunidade Económica Europeia

CERVAS: Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens

CG: Cromatografia de fase Gasosa

CITES: Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora

CLAR: Cromatografia Líquida de Alta Resolução

DDT: diclorodifeniltricloroetano

DGAV: Direção Geral de Alimentação e Veterinária

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

ICI: Imperial Chemical Industries

ICNB: Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade

INMLCF-C: Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses - Centro

INR: International Normalized Ratio

Km²: Quilómetros quadrados

L: Litros

LC (Least-Concern): pouco preocupante

LD₅₀: dose letal mediana

LTD: Limited

mg/kg: miligramas por quilo

MGP (*Matrix gla protein*): proteína matriz Gla

ml: mililitros

ng/g: nanogramas por grama

OPA: o-ftaldialdeído

PAN: Pesticide Action Network- Pesticide Database

PAH'S (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon): Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos

PBMS: Predatory Bird Monitoring Scheme

pH: potencial de hidrogénio

PNSE: Parque Natural da Serra da Estrela

ppb: partes por bilião

ppm: partes por milhão

PV: Peso Vivo

RF: Fator de retenção

RNCRF: Rede Nacional de Centros de Recuperação para Fauna

rpm: Rotações por minuto

SA: Sociedade anónima

SDS: Same Day Solutions

SEPNA- GNR: Serviço de Proteção da Natureza e do Ambiente- Guarda Nacional Republicana

SOS: Sigla para casos de socorro

TP: Tempo de protrombina

EU (European Union): União Europeia

UV: Ultravioleta

UV-VIS: Ultravioleta-Visível

VKOR: Vitamina K Epóxido Redutase

w/w: em peso

Índice

1. Introdução.....	12
1.2. Relatório de estágio.....	20
2. Ecotoxicologia	22
3. Avaliação de Risco	29
4. Ecologia da espécie.....	32
5. Roedores	39
6. Compostos rodenticidas	40
7. Mecanismos de ação	48
8. Farmacocinética	51
9. Metabolismo	52
10. Sintomatologia, diagnóstico e tratamento	53
11. Efeitos sub-letais.....	56
12. Resistências aos rodenticidas	57
13. Volume de vendas de rodenticidas.....	58
14. Regulamentação	61
15. Métodos analíticos	64
16. Objetivos do trabalho	70
17. Materiais e Métodos.....	71
18. Resultados	73
19. Discussão dos resultados	84
20. Conclusão	85
21. Bibliografia	87
22. Apêndices e Anexos.....	I
<u>Anexo 1: Fotografias de atividades realizadas no estágio</u>	<u>I</u>
<u>Anexo 2: Alguns exemplares da espécie estudada</u>	<u>III</u>
<u>Anexo 3: Regulamentação</u>	<u>III</u>
<u>Apêndice 1: Informações extra sobre os animais estudados</u>	<u>XI</u>

Índice de Figuras

Figura	Legenda	Pág.
<u>Figura 1</u>	Destino dos produtos fitofarmacêuticos no ambiente	13
<u>Figura 2</u>	Formas de exposição aos tóxicos	13
<u>Figura 3</u>	Percentagem de Corujas-das-Torres positivas a rodenticidas em diferentes períodos	18
<u>Figura 4</u>	Multiplicidade do efeito adverso em ecotoxicologia	22
<u>Figura 5</u>	Modelo conceptual de ecotoxicologia dos rodenticidas	25
<u>Figura 6</u>	Fatores dos quais depende o risco de envenenamento secundário de uma espécie	26
<u>Figura 7</u>	Modelo de avaliação de risco	29
<u>Figura 8</u>	Fatores intrínsecos ao individuo que afetam a toxicidade	31
<u>Figura 9</u>	Fatores extrínsecos ao individuo que afetam a toxicidade	31
<u>Figura 10</u>	LD ₅₀ dos rodenticidas estudados em diferentes animais	41
<u>Figura 11</u>	Comparação de potências de diferentes rodenticidas	43
<u>Figura 12 e 13</u>	Efeitos de vários rodenticidas em Corujas-das-Torres	46
<u>Figura 14</u>	Persistência (em dias) dos rodenticidas de 2ª geração no sangue e fígado de mamíferos	47
<u>Figura 15</u>	Cascata de coagulação de uma ave	49
<u>Figura 16</u>	Ciclo da vitamina K e pontos de ação dos rodenticidas	50
<u>Figura 17</u>	Substâncias ativas que foram revistas sob a Diretiva dos Produtos Biocidas	58
<u>Figura 18</u>	Percentagem de vendas de produtos fitofarmacêuticos	59
<u>Figura 19</u>	Evolução da venda de produtos fitofarmacêuticos ao longo de 15 anos	60
<u>Figura 20</u>	Evolução da venda de produtos fitofarmacêuticos de 2010-2014	60
<u>Figura 21</u>	Características das amostras	66
<u>Figura 22</u>	Mecanismos de separação das amostras	66
<u>Figura 23</u>	Sistemas de HPLC	68
<u>Figura 24</u>	Ingressos de <i>Tyto alba</i> no CERVAS de 2006-2015	73

Índice de Tabelas

Tabela	Título	Pág.
<u>Tabela 1</u>	Ecologia da espécie estudada	34
<u>Tabela 2</u>	Caracterização do valor de LD ₅₀ para o brodifenacume em diferentes aves que ocorrem em Portugal	42
<u>Tabela 3</u>	Resultados do estudo	75
<u>Tabela 4</u>	Achados de necrópsia dos animais positivos	76
<u>Tabela 5</u>	Resultados e achados de necrópsia dos animais do estudo paralelo	80

Índice de gráficos e mapas

Gráfico	Legenda	Pág.
<u>Gráfico 1</u>	Número de entradas de animais nos diferentes anos de estudo	73
<u>Gráfico 2</u>	Número de amostras por ano de estudo	74
<u>Gráfico 3</u>	Causas de ingresso dos animais em estudo	74
<u>Gráfico 4</u>	Estações do ano em que ingressaram as corujas	82
<u>Gráfico 5,6,7,8,9,10 e 11</u>	Percentagem de animais que entraram vivos ou mortos por ano de estudo	Anexo 3
<u>Gráfico 12</u>	Freguesias de onde são oriundos os animais em estudo	Anexo 3
<u>Gráfico 13</u>	Concelhos de onde são oriundos os animais em estudo	Anexo 3
<u>Gráfico 14</u>	Distritos de onde são oriundos os animais em estudo	Anexo 3
<u>Gráfico 15</u>	Destino dos animais em estudo	Anexo 3
<u>Gráfico 16</u>	Género dos animais em estudo	Anexo 3
<u>Mapa 1</u>	Distribuição dos animais estudados por distrito	Anexo 3
	Distribuição dos animais estudados por concelho	
<u>Mapa 2</u>		Anexo 3

Índice de Fotografias

Fotografia	Legenda	Pág.
<u>Fotografia 1</u>	Tyto alba (cedida por Dr. Ricardo Brandão)	32
<u>Fotografia 2</u>	Coruja-das-Torres (cedida por Dr. Ricardo Brandão)	33
<u>Fotografia 3</u>	Cria de Coruja-das-Torres (cedida por Dr. Ricardo Brandão)	36
<u>Fotografia 4</u>	Coruja-das-Torres (cedida por Dr. Ricardo Brandão)	38
<u>Fotografia 5</u>	Exemplo de apresentação do brodifenacume	44
<u>Fotografia 6</u>	Exemplo de apresentação do brodifenacume	44
<u>Fotografia 7</u>	Exemplo de apresentação do difenacume	45
<u>Fotografia 8</u>	Exemplo de apresentação do difenacume	45
<u>Fotografia 9</u>	Exemplo de apresentação do bromadiolona	46
<u>Fotografia 10</u>	Exemplo de apresentação do bromadiolona	47
<u>Fotografias 11,12 e 13</u>	Instalações do CERVAS onde foi realizado o estágio (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)	Anexo 1
<u>Fotografias 14,15 e 16</u>	Exemplo de Libertação de um animal recuperado no CERVAS (Bufo Real: Bubo bubo) (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)	Anexo 2
<u>Fotografias 17,18 e 19</u>	Exemplo de saída de campo sobre micoturismo (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)	Anexo 2
<u>Fotografia 20,21 e 22</u>	Alguns exemplares de Coruja-das-Torres (Tyto alba) (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)	Anexo 2

1. Introdução

Como em muitos outros casos onde o Homem tem estado a alterar o seu meio ambiente, os produtos fitofarmacêuticos têm um impacto negativo sobre os ecossistemas, de formas variadas e complexas que os cientistas têm dificuldade de prever ou controlar. Tem vindo a ser demonstrado que os produtos agrícolas têm capacidade de alterar processos biológicos em espécies selvagens (não alvo) e que são responsáveis também por poluir tanto os solos como as fontes de água (lençóis freáticos, etc.), podendo até entrar na cadeia alimentar, sendo por isso um problema de saúde pública (Armentano, Iammarino, Magro, & Muscarella, 2012; *PESTICIDE POISONING RAPTORS AND YOU*, n.d.; Shimshoni, Soback, Cuneah, Shlosberg, & Britzi, 2013).

Entende-se por **produto fitofarmacêutico**, produtos destinados à defesa das plantas e da produção agrícola, com exceção de adubos e corretivos; na sua composição entra uma ou mais substâncias ativas responsáveis pela prevenção ou controlo dos inimigos ou organismos nocivos; podem ter várias designações, consoante os inimigos que combatem (Decreto-Lei nº 94/98).

Existem potenciais riscos associados a estes produtos, são eles (Simões, 2005):

- Riscos para a saúde humana e animal (doenças agudas e crónicas, a nível hormonal e reprodutivo);
- Provocação de resíduos nos produtos e géneros agrícolas tratados;
- Provocação de resíduos no solo e na água e causa de intoxicação nos organismos do solo e nos organismos aquáticos;
- Poluição do ar;
- Persistência e acumulação na cadeia alimentar em resultado da sua difícil degradação;
- Riscos para a biodiversidade;
- Provocação de resistências em alguns organismos.

A seguinte imagem ilustra o destino dos produtos fitofarmacêuticos no ambiente (Figura 1).

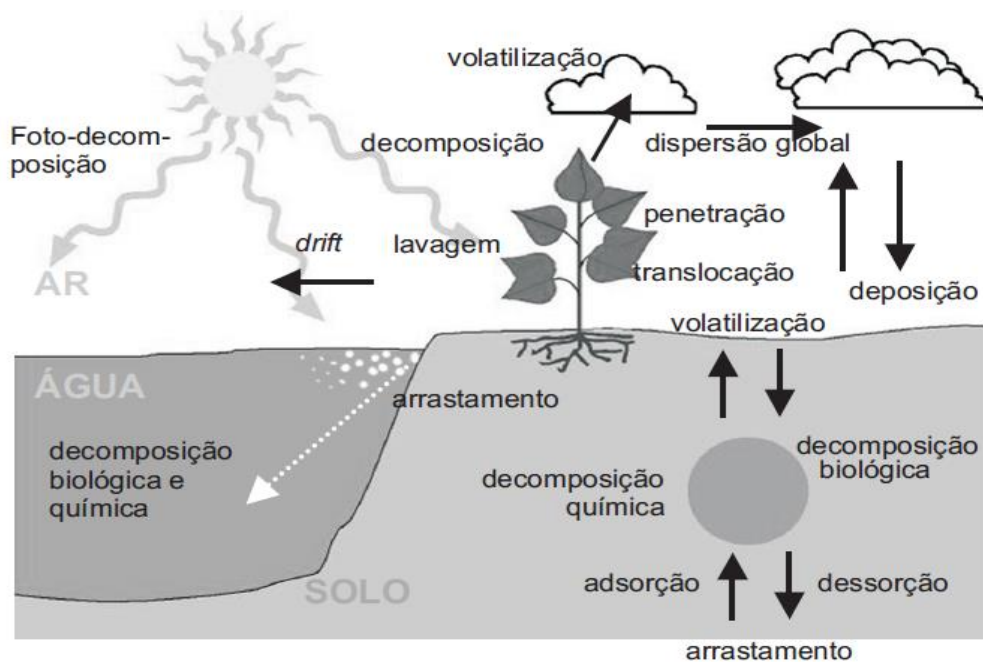


Fig 1: Destino produtos fitofarmacêuticos no ambiente (Adaptada de (Simões, 2005))

A seguinte imagem ilustra a cadeia de exposição a um tóxico, por parte dos humanos, animais, plantas, água, etc. (Figura 2).

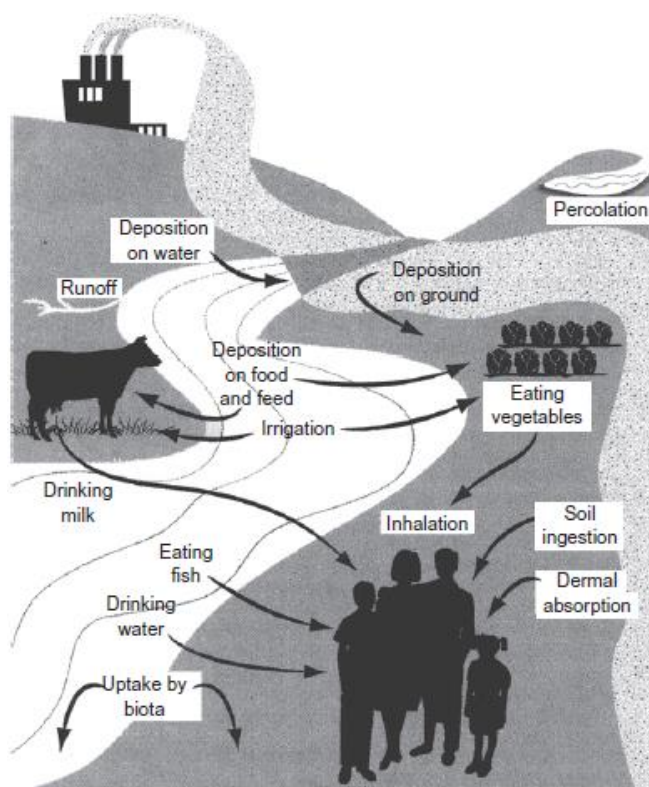


Fig 2: Formas de exposição aos tóxicos (Adaptada de (Ramesh C. Gupta, 2012))

Devido a este problema cada vez mais emergente criou-se o conceito de “One Health” que define uma interligação entre a saúde dos humanos, dos seus animais de estimação, da fauna selvagem e dos ecossistemas. “One Toxicology” é um termo que reflete uma ligação semelhante no estudo de doença induzidas quimicamente e de como a toxicologia humana, dos animais domésticos, da fauna selvagem e a ecotoxicologia se influenciam umas às outras (Ramesh C. Gupta, 2012).

Entende-se por **ecotoxicologia** a área da toxicologia que estuda os efeitos tóxicos causados por poluentes naturais ou sintéticos nos constituintes dos ecossistemas, animais (incluindo humanos), vegetais e microbianos, num contexto integral (Truhaut, 1977).

Sabe-se que locais onde exista uma alta densidade humana irão atrair mais roedores, consequentemente, a necessidade de controlo de pragas aumenta. O método de eleição para o controlo dos roedores são os rodenticidas, os de 2ª geração são mais persistentes e altamente tóxicos. O seu papel como contaminantes em aves predadoras tem sido altamente documentada (Albert, Wilson, Mineau, Trudeau, & Elliott, 2010; Christensen, Lassen, & Elmeros, 2012; Elliott et al., 2014; Lambert, Pouliquen, Larhantec, Thorin, & L’Hostis, 2007; Ward B Stone, Okoniewski, & Stedelin, 1999; Thomas et al., 2011).

Os rodenticidas pertencem à classe dos pesticidas. Entende-se por **pesticida** qualquer composto que seja utilizado para destruir, repelir ou controlar insetos, ervas, nemátodes, fungos, roedores, microrganismos ou qualquer outra forma de vida que seja considerada peste (*PESTICIDE POISONING RAPTORS AND YOU*, n.d.).

Os pesticidas são criados para terem atividade biológica e podem envenenar espécies não-alvo seja diretamente ou através de acumulação no meio ambiente (P. Brown et al., 1996).

Os rodenticidas foram o ponto de viragem no controlo de roedores, a fórmula para este sucesso é o seu efeito retardado, a ausência de um gosto particular e a baixa dose de ingestão (Atlanlusi, 2012).

O uso de rodenticidas tornou-se uma opção dominante em todo o mundo para controlar infestações de roedores, e estima-se que causam cerca de 50 biliões de dólares anualmente em estragos de comida e na saúde pública (Webster et al., 2015). Estes podem ser colocados em carcaças de animais mortos e assim envenenar grandes predadores como aves de rapina, lobos, etc. (Álvares, 2003).

O facto de os rodenticidas serem tóxicos para todos os vertebrados (Brakes & Smith, 2005) torna muito preocupante o seu impacto sobre as populações (Pereira, 2010).

O estudo da toxicologia das aves teve a sua origem nos anos 50 e 60, quando os efeitos dos organoclorados como o DDT (diclorodifenilotricloroetano) numa variedade de espécies de aves foram reconhecidos (Ramesh C. Gupta, 2012).

Sabe-se que em todo o mundo existem cerca de 30 ordens de aves, com aproximadamente 2000 géneros e 10 000 espécies (Ramesh C. Gupta, 2012).

É considerado que as aves são as mais sensíveis a contaminantes nos ambientes terrestres (Sheffield, 1996). Poucas aves de rapina têm sido estudadas ao detalhe ou propostas para sentinela. Uma exceção é o falcão peregrino (*Falco peregrinus*), que tem sido estudado intensamente devido ao seu dramático declínio populacional e o seu estado de ameaçado seguido de falha reprodutiva devido à exposição ao DDT e outros inseticidas (Sheffield, 1996).

Tal como os mineiros usavam canários nas minas, muitas espécies hoje em dia têm sido usadas como biomonitores da saúde ambiental e da sua qualidade. Estas espécies podem fornecer um “sistema de aviso precoce” para contaminantes tóxicos ambientais. Entre as espécies mais atrativas para este propósito estão os predadores de topo, pois estão no topo da cadeia alimentar e estão na posição de serem negativamente afetados por envenenamento secundário e bioacumulação dos contaminantes do ambiente (Sheffield, 1996).

As aves de rapina, tanto diurnas como noturnas, são um ótimo indicador de saúde do ecossistema em áreas agrícolas devido aos extensos e variados territórios que ocupam, pela sua posição na cadeia alimentar. Como predadores de topo, as aves de rapina têm um maior risco de intoxicação por pesticidas, devido à ingestão quer de insetos, pequenos mamíferos ou pequenas aves (Pereira, 2010; *PESTICIDE POISONING RAPTORS AND YOU*, n.d.; Sheffield, 1996).

Muitos estudos descrevem exposição a rodenticidas e mortalidade intencional de aves e mamíferos (Rattner, Lazarus, Elliott, Shore, & van den Brink, 2014), apesar disso não há evidências definitivas de declínio em larga-escala de uma população selvagem.

Como já mencionado, não há evidências de que o uso de rodenticidas cause declínios populacionais em larga-escala (Rattner et al., 2014), mas a exposição aos mesmos tem o potencial de causar mortalidade adicional em populações que já estão criticamente ameaçadas (Rattner et al., 2014). Além disso, em aves com baixas taxas de reprodução, a morte de apenas alguns indivíduos, poderá afetar uma população de um determinado local.

O envenenamento de espécies “não-alvo” pode ser primário ou secundário. O **envenenamento primário** ocorre quando estas espécies consomem o isco. O **envenenamento secundário** ocorre quando as espécies “não-alvo” ingerem tecidos de

animais alvo. Este tipo de envenenamento pode levar a efeitos sub-letais ou mesmo à morte, dependendo da quantidade ingerida. (Lambert et al., 2007; Solymar, 2001; Ward B Stone et al., 1999; Yan, Qiao, Shen, Xiang, & Shen, 2016)

Quando se fala de envenenamento secundário de aves de rapina, pensa-se logicamente, nos roedores como causa desse envenenamento. Contudo, não são apenas os roedores (tanto alvo como não-alvo), os possíveis focos do problema. Como se sabe, muitas aves de rapina alimentam-se de outras aves que, como foi comprovado, podem também ser sujeitas a ingestão destas substâncias quer de forma primária (aves herbívoras ou omnívoras) ou também de forma secundária (aves carnívoras ou necrófagas) (J.E. Dowding, 1999).

No Reino Unido vários incidentes demonstraram que o envolvimento de pesticidas está dividido em 4 categorias. De acordo com esta informação foi realizado um estudo no período de 1993-1997 e os envenenamentos de vertebrados dentro de cada categoria rondavam os seguintes valores (Cooper, 2002):

1. **Uso aprovado.** Os incidentes ocorrem quando os produtos são utilizados de acordo com os regulamentos específicos (1-7%).
2. **Uso indevido.** Descuido, accidental ou falha intencional na adesão aos procedimentos corretos para o uso destes produtos (10-12%).
3. **Abuso.** Quando os pesticidas são usados para envenenamento deliberado e intencional da vida selvagem (55-74%).
4. **Uso inespecífico.** Aqueles casos onde o incidente não pode ser atribuído a nenhuma das outras opções (12-22%).

Alguns estudos indicam que em França o segundo maior grupo de animais a ser intoxicado por rodenticidas são os predadores de roedores, incluindo as rapinas. Em Itália os rodenticidas (36%) são o grupo mais frequentemente envolvido em envenenamentos de animais de estimação, seguidos pelos inseticidas (25,6%), herbicidas (24,3%), fungicidas (8,1%) e moluscicidas (6%) (Armentano et al., 2012).

Os animais de companhia são frequentemente vítimas de envenenamento deliberado e de aplicações negligentes de pesticidas (P. Brown et al., 1996).

Animais não-alvo podem ser envenenados ao ingerir carcaças envenenadas ou por roedores que tenham ingerido rodenticidas (Marek & Koskinen, 2007).

O estado das populações das Corujas-das-Torres (*Tyto alba*), no Canadá, foi recentemente alterado para “ameaçado” devido a muitos fatores, entre eles o envenenamento por rodenticidas (Rattner et al., 2014).

Segundo Gupta, em animais de companhia as intoxicações mais comuns são por pesticidas e por substâncias de abuso e, em animais de produção, são mais uma vez os pesticidas os mais presentes. Em cavalos são as intoxicações por plantas, e nos animais

selvagens as mais comuns são por pesticidas e por metais pesados (principalmente chumbo). Foram também reportadas intoxicações por cianobactérias e botulismo principalmente em aves aquáticas (Ramesh C. Gupta, 2012).

A exposição das aves rapinas aos rodenticidas de 2ª geração foi reportada nos EUA (W B Stone, Okoniewski, & Stedelin, 2003; Ward B Stone et al., 1999), Canadá (Albert et al., 2010; Thomas et al., 2011) e Europa (Christensen et al., 2012). Nos EUA e no Canadá os rodenticidas têm sido reavaliados e após uma avaliação de risco concluiu-se que o brodifenacume e a diftialona, seguidas da bromadiolona e da difacinona são um grande perigo para os mamíferos e aves não-alvo em relação ao envenenamento primário e secundário (Webster et al., 2015).

Os novos rótulos para os rodenticidas já indicam as instruções de uso. Limitações no registo dos produtos começam agora a ser implementadas nos dois países (Webster et al., 2015). Apesar disso, alguns usos extra permitidos e violações ao uso (por exemplo, agricultura) muito provavelmente vão continuar a constituir um risco para a vida selvagem não-alvo como as Corujas-das-Torres (Webster et al., 2015).

Em aves domésticas estão documentadas mortes por ingestão destes tóxicos, mas os animais não apresentavam sinais clínicos de intoxicação porque as aves são menos suscetíveis aos rodenticidas que os mamíferos (Erickson W, 2004; Sarabia et al 2008; Ratter et al 2010 e 2011).

Estudos indicam que iscos com brodifenacume levaram a uma redução de mais de 80% do Frango de Água da Ilha Lord Howe (*Gallirallus australis*) e à perda de algumas aves de rapina como o tartaranhão austroasiático (*Circus approximans*) e o Ninox da Tasmânia (*Ninox novaeseelandiae* que pertence ao grupo das rapinas noturnas), em ilhas da Nova Zelândia (Rattner et al., 2012).

No Alasca, carcaças de 320 Gaivotas-de-Bering (*Larus glaucescens*) e de 46 Águias-de-Cabeça-Branca (*Haliaeetus leucocephalus*) foram encontradas mortas logo após um programa de erradicação de roedores usando brodifenacume (Rattner et al., 2012).

Num estudo realizado no reino unido entre 1963 e 1996, foram encontradas 1067 Corujas-das-Torres mortas. Cerca de 53,7% dos animais morreu devido a acidentes (atropelamentos (44,7%), entre outros) e cerca de 7,1% morreu devido a outras causas humanas, como por exemplo envenenamento (6,1%) ou tiro (1%) (I. Newton, I. Wyllie, 1997).

Das 557 aves estudadas, 132 (24%) continham resíduos de rodenticidas como o difenacume, brodifenacume, bromadiolona, flocoumafeno ou mais que um destes compostos (I. Newton, I. Wyllie, 1997).

Durante os anos de estudo, o número de animais onde foram detetados resíduos aumentou. Isto reflete o aumento do uso destes químicos e por isso houve uma exposição maior das corujas aos mesmos (Figura 3) (I. Newton, I. Wyllie, 1997).

Table 3.—Percentage of Barn Owls (*Tyto alba*) from Britain that contained rodenticides in different periods.

	Number of owls analyzed	Number (percent) containing residues
1983-1984	18	1 (6)
1985-1986	75	9 (12)
1987-1988	61	8 (13)
1989-1990	133	31 (23)
1991-1992	139	41 (29)
1993-1994	131	42 (32)

Significance of variation between periods: $\chi^2_5 = 20.4$,
P < 0.001.

Fig 3: Percentagem de Corujas-das-Torres positivas a rodenticidas em diferentes períodos (Adaptado de (I. Newton, I. Wyllie, 1997))

No total, apenas 8 foram diagnosticadas como tendo morrido por envenenamento por rodenticidas. Apenas 7 das corujas apresentavam hemorragias típicas e outras 8 não apresentavam hemorragias ou outro tipo de sintomas, mas continham rodenticidas (0,42 mg/kg) (I. Newton, I. Wyllie, 1997).

Em 2001, houve no Reino Unido, cerca de 346 incidentes com venenos. Destes 346, 176 ocorreram em fauna selvagem (E.A. Barnett, M.R. Fletcher, K. Hunter, 2002).

Dos 176, 31% (55 casos) a morte ocorreu por causa dos pesticidas e em 27% a causa de morte foi outra (E.A. Barnett, M.R. Fletcher, K. Hunter, 2002).

No mesmo país, a percentagem de Corujas-das-Torres adultas com níveis de detetáveis de rodenticidas, no fígado, aumentou para cerca de 60% nos últimos anos. A percentagem de adultos que apresentam mais de que um rodenticida também aumentou (Huang et al., 2016).

Para além das espécies de vertebrados, alguns estudos têm aprofundado o impacto em espécies de invertebrados e as implicações dos rodenticidas em envenenamento secundário ou terciário tendo como “vetor” espécies de invertebrados.

Bowie e Ross 2006, realizaram um estudo com espécies de gafanhotos, na Nova Zelândia, de forma a entender como interagem estes animais com os iscos e quantificar o risco de envenenamento secundário de aves após o consumo de gafanhotos com resíduos de rodenticidas anticoagulantes. Estes investigadores observaram que, apesar de existir um baixo risco de envenenamento secundário a partir destes indivíduos, e de acordo com estudos anteriores, existe um risco superior com outras espécies de invertebrados, como os caracóis (*Cantareus aspersus* e *Achatina fulica*). Também Hoare e Hare 2006 realizaram uma revisão

sobre o mesmo tema, onde concluíram que os invertebrados podem representar um risco significativo de envenenamento secundário a aves. Booth et al 2003, realizaram uma pesquisa com espécies de caracóis e minhocas e detetaram resíduos de brodifenacume nestes animais. Estes últimos estudos demonstram que o envenenamento por rodenticidas é um acontecimento que pode envolver um habitat praticamente completo podendo afetar uma cadeia ecológica de forma muito mais significativa do que inicialmente se poderia pensar (Pereira, 2010).

Newton et al (1998/1999), sugere que para a espécie em estudo os valores de rodenticidas detetáveis são de mais de 0,1-0,2 mg/kg. Nesse mesmo estudo envenenaram experimentalmente algumas corujas e os valores alteraram-se, passando para 0,2-1,72 mg/kg.

Eason e Spurr 1995 (J.E. Dowding, 1999) averiguaram que 10 espécies ou subespécies de aves foram encontradas mortas devido a ingerirem iscos envenenados com brodifenacume e 5 espécies foram encontradas mortas devido a envenenamento secundário.

Em animais vivos, as biópsias de fígado não constituem uma técnica muito usada, pelo que a deteção de veneno é feita através de análises de soro ou plasma dos animais (P. J. Berny, Buronfosse, & Lorgue, 1995).

Existem técnicas para deteção de rodenticidas: espectrofotometria, fluorometria, cromatografia por camada fina e HPLC (High Performance Liquid Chromatography), sendo que a última parece ser a mais efetiva. Os métodos de revelação/deteção mais utilizados são a fluorescência e os ultravioletas (dependendo das características do veneno) (Lotfi et al., 1996).

A prevalência de rodenticidas no fígado de aves de rapina varia entre 29-100% nos Estados Unidos da América (W B Stone et al., 2003); 23-92% no Canadá (Albert et al., 2010; Thomas et al., 2011); 10-38% em Inglaterra e 33-57% em Espanha (Sánchez-Barbudo, Camarero, & Mateo, 2012).

Devido a todas estas questões torna-se de extrema importância realizar um estudo sobre os efeitos dos rodenticidas nos animais da zona centro de Portugal, e também porque são aves com um grande grau de contacto com os humanos. Por isso o objetivo principal do presente trabalho consistiu numa pesquisa da exposição de uma espécie de aves de rapina noturna comum a nível nacional -*Tyto alba* – (Coruja-das-Torres) a agentes tóxicos rodenticidas e tentar deduzir um eventual envolvimento com a causa de morte do indivíduo e com a necrópsia realizada para verificar compatibilidades com possíveis efeitos sub-letais. O estudo incidiu maioritariamente nesta espécie porque é aquela que mais se alimenta de roedores e por isso estará mais vulnerável a envenenamentos.

1.2. Relatório de estágio

Este estudo foi realizado com aves da região centro de Portugal, que deram entrada no período de 2010-2015 no CERVAS- Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens, em Gouveia, local onde foi efetuado um estágio curricular com a duração de seis meses (outubro/2015 a abril/2016). Destas aves foi analisado o fígado dos animais que chegaram mortos, que morreram durante o processo de recuperação ou que foram eutanasiados.

O Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS) é uma estrutura que pertence ao Instituto da Conservação da Natureza e da Biodiversidade (ICNB) / Parque Natural da Serra da Estrela (PNSE) e que se encontra desde 27 de março de 2009 sob a gestão da Associação ALDEIA (Ação, Liberdade, Desenvolvimento, Educação, Investigação, Ambiente) (www.aldeia.org) com o apoio da ANA – Aeroportos de Portugal (que tem disponibilizado anualmente 40000€, no âmbito da iniciativa Business & Biodiversity) e outros parceiros.

O CERVAS foi criado em 2004 para funcionar como um hospital associado a um polo de apoio à investigação científica para desenvolver linhas de trabalho de ecologia, recuperação e vigilância da fauna selvagem. A atividade do CERVAS começou em 2006 e tem-se baseado na receção, tratamento, recuperação e devolução à Natureza de animais selvagens feridos e/ou debilitados, em paralelo com o desenvolvimento de linhas de investigação, numa perspetiva de conservação da fauna selvagem. Estes trabalhos são complementados com ações de educação ambiental e divulgação do património natural, direcionadas para diversos públicos a nível regional.

O CERVAS está integrado na Rede Nacional de Centros de Recuperação para Fauna (RNCRF), coordenada pelo ICNB em articulação com a Direcção-Geral de Veterinária (DGV) e com a Autoridade Florestal Nacional (AFN), e regulamentada pela portaria nº 1112/2009, de 28 de setembro. No âmbito desta rede, o CERVAS pretende cumprir os seguintes objetivos:

1. Receber, manter em condições adequadas e recuperar a nível físico e comportamental indivíduos de espécies de animais selvagens autóctones, preparando-os para a devolução à natureza em condições ótimas que garantam a sua sobrevivência.
2. Compilar e disponibilizar informação e amostras biológicas relativas aos animais que ingressam no centro, vivos ou mortos.
3. Promover o conhecimento científico na área da vigilância da fauna selvagem, tanto a nível sanitário como dos fatores de ameaça que a afetam.

4. Contribuir para ações de conservação da natureza (designadamente *ex situ*), integrando a atividade do centro nas estratégias de conservação de fauna selvagem a nível nacional e internacional.
5. Dar destino a animais irrecuperáveis que tenham potencial e condições para serem usados em programas pedagógicos e de conservação *ex situ*.
6. Contribuir para a Educação Ambiental, através de um maior conhecimento sobre a fauna selvagem autóctone e respetivas ameaças, bem como em relação ao trabalho dos centros de recuperação, por parte da população.
7. Contribuir para a valorização do património natural, principalmente a nível regional e com particular destaque para o PNSE, através de um maior conhecimento da sua diversidade biológica, em particular no que se refere à fauna selvagem.

No sentido de organizar e estruturar as diferentes linhas de trabalho desenvolvidas no CERVAS, integrando colaboradores e dinamizando as diferentes parcerias em curso, existem vários projetos em curso, que na sua maioria transitaram de anos anteriores:

- Projeto BARN - Conservação e Estudo da Distribuição e Ecologia das Aves de Rapina Noturnas;
- Colocação de caixas-ninho para aves de rapina noturnas;
- Monitorização dos territórios e locais de nidificação de aves de rapina noturnas;
- Biometrias de crias de aves de rapina noturnas;
- Os cágados vão à escola;
- Toxicologia em Fauna Selvagem;
- Parasitologia em Aves Selvagens;
- Utilização de Sistemas de Informação Geográfica (SIG's) para Análise de Dados do CERVAS;
- Banco de amostras biológicas;
- Base de dados;
- Marcação e Seguimento de Animais Libertados;
- Stri – Rapinas Noturnas;
- Projeto LIFE – MEDWOLF;
- À descoberta dos cogumelos silvestres;
- Educação Ambiental;
- Libertações;
- Ações com as Escolas;
- Kit de Educação Ambiental;
- Centro de Educação Ambiental de Folgosinho;

- Visitas ao CERVAS;
- Cursos e Workshops;

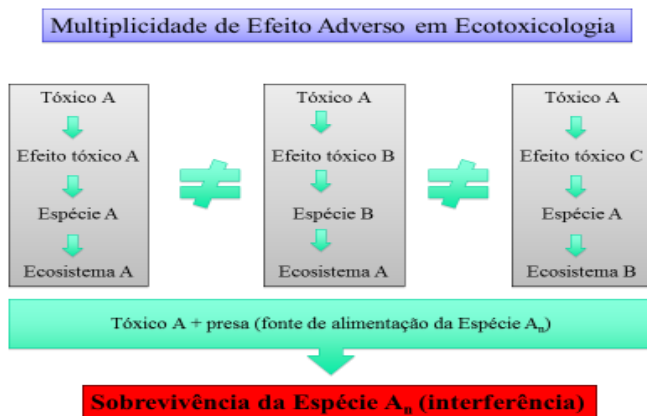
As atividades realizadas durante o estágio (que decorreu no período de outubro de 2015 a abril de 2016) foram, à chegada dos animais, receção dos feridos e/ou debilitados ou mortos, realização de exame físico, retirar sangue, colocação de pensos ou talas, e por vezes, administração de medicamentos. Já no internamento as atividades consistiam em fazer a alimentação dos animais, fazer exame físico quando necessário, fazer a limpeza das instalações, e das jaulas. No exterior as atividades consistiam em fazer a alimentação dos animais, tratar do biotério (limpeza e alimentação), e limpeza das jaulas.

Nesse período entraram no total 152 animais (87 em 2015 e 65 em 2016). Participei ainda em 138 ações no total, em que 51 eram devoluções à natureza de animais recuperados, 15 eventos de educação ambiental em escolas da região tendo por temas por exemplo aves de rapina noturnas, cativeiro e captura ilegal de espécies selvagens, etc. Participei ainda em 28 eventos sobre vários temas, como por exemplo, micoturismo, workshops de recuperação de aves selvagens e de aves invernantes, várias palestras, etc. e ainda auxiliei em 46 visitas de grupos ao CERVAS (Anexo 1).

2. Ecotoxicologia

Na europa, a vida selvagem sofre de pressão antropológica severa, mais marcada nos predadores e nas aves de rapina (algumas delas necrófagas). Estas podem ser consideradas, por vezes, indesejadas, devido à sua alimentação (P. Berny et al., 2015).

De seguida apresenta-se uma imagem que descreve a multiplicidade do efeito adverso em ecotoxicologia, ou seja, o mesmo tóxico pode ter diferentes efeitos adversos afetando diferentes espécies ou a mesma em diferentes ecossistemas ou não (Figura 4).



1

Fig 4. Multiplicidade de efeito adverso em ecotoxicologia (Adaptado de Prof. Álvaro

Infestações de roedores são uma grande ameaça para a saúde pública por poderem transmitir zoonoses (como por exemplo a peste e a leptospirose) (Ruiz-Suárez et al., 2014), darem origem a danos materiais, poderem alimentar-se da comida dos animais de produção ou de companhia, e de sementes (em diferentes estágios de crescimento) e frutas produzidas nas explorações, levando também a perdas económicas.

Os venenos mais implicados em intoxicações premeditadas em animais selvagens são (Álvares, 2003):

- **Estricnina:** provoca estimulação do sistema nervoso, com rigidez muscular, convulsões, pupilas dilatadas e morte por asfixia. Apesar da sua detenção, comercialização e uso serem proibidos em Portugal, era um dos venenos mais usados.
- **Organofosforados:** conhecido como “E605 forte”, atualmente proibido em Portugal. Provoca estimulação do sistema nervoso. Os sintomas são excessiva produção de saliva, fraqueza e descoordenação muscular, convulsões e morte por asfixia.
- **Carbamatos:** têm um modo de atuação semelhante ao dos organofosforados, embora sejam menos potentes. Um dos grupos de tóxicos mais frequentemente implicados em envenenamentos de fauna selvagem na Europa.
- **Organoclorados:** englobam o DDT, atualmente proibido em Portugal. São bioacumuláveis, isto é, acumulam-se no organismo pelo que a exposição repetida a pequenas doses pode provocar intoxicações graves. Provoca estimulação do sistema nervoso, com sintomas de excessiva produção de saliva, mastigação contínua, incontinência e convulsões.
- **Rodenticidas:** a maioria provoca problemas na coagulação do sangue, mas outros afetam o sistema nervoso, os rins ou o estômago.

Os rodenticidas podem ser considerados como uma das maiores causas de envenenamento em animais (tanto domésticos como selvagens) (P. J. Berny et al., 1995).

Quando se fala de envenenamento, é necessário reter alguns conceitos (Álvares, 2003):

- **Tóxico:** toda a substância química capaz de produzir, em determinadas circunstâncias, lesões em seres vivos.

- **Veneno:** tóxico altamente perigoso, isto é, com elevada potencialidade de provocar a morte de um ser vivo.
- **Intoxicação premeditada:** por exposição a tóxicos, geralmente colocados em iscos e destinados a causar a morte a espécies selvagens.
- **Intoxicação acidental:** por exposição a tóxicos, geralmente de uso agrícola ou industrial, que não são destinados à fauna selvagem.

Devido à sua persistência e capacidade de bioacumulação, combinadas com o seu uso intensivo e regular na agricultura, para fins comerciais, domésticos, públicos e a sua aplicação na conservação da vida selvagem, os rodenticidas são agora contaminantes das espécies não-alvo mundialmente disseminados (Webster et al., 2015).

Rodenticidas de 2^o geração, como o brodifenacume, são maioritariamente utilizados para controlar roedores comensais (aqueles que vivem em associação com o Homem e os animais domésticos (Eason, Murphy, Wright, & Spurr, 2002)), mas o seu uso tem aumentado na agricultura e nos ecossistemas florestais onde substituíram parcialmente os venenos de ação rápida como o monofluoroacetato de sódio (1080) ou o fosfato de sódio (Eason et al., 2002; Gamelin & Harry, 2005).

Este uso rural e florestal expõe uma grande diversidade de espécies selvagens não alvo a potenciais perigos de intoxicação primária e secundária (Eason et al., 2002).

Recentemente, os rodenticidas foram reautorizados para proteção de plantações, na União Europeia, até 2021 (regulamento 1109/2009) (COEURDASSIER et al., 2014).

Em 2005, foram criados em França regulamentos que estipulam que não devem ser aplicados rodenticidas em locais onde as populações de roedores ultrapassem aproximadamente os 200 indivíduos por hectare, de forma a limitar os impactos destes tratamentos sob a fauna selvagem (COEURDASSIER et al., 2014).

Usando os dados de 10 anos (2001-2010), Decors et al. 2012, mostraram que a quantidade de bromadiolona aplicada em campos estava linearmente correlacionada com o número de municípios que anunciaram que realizaram o tratamento (**Quantidade aplicada= 1,248 x número de municípios – 4,036**). Por exemplo, baseado nesta equação pode prever-se que os 51 municípios de Puy-de-Dôme (França) iriam aplicar cerca de 59,6 toneladas de iscos (3 vezes menos que as 179,3 toneladas atualmente usadas). Estes dados sugerem que os tratamentos foram altamente intensivos em 2011 quando comparados com os outros anos. Apesar disso o ministério da agricultura francês não reportou nenhum caso de mau uso de bromadiolona nesse ano. De acordo com o ministério da agricultura francês, naquela região,

80 toneladas de iscos foram colocadas em 2005, 130 toneladas em 2006, 70 toneladas em 2007, menos de 70 toneladas em 2008 e 2009, 50 toneladas em 2010 e 180 toneladas em 2011. Entre janeiro e junho de 2012, 114 toneladas de iscos já tinham sido colocadas e estimava-se que poderiam chegar às 200-250 toneladas nesse ano (COEURDASSIER et al., 2014).

Em 2011 a comissão europeia reautorizou o uso de bromadiolona para o controlo de roedores até 2021 (Diretiva 2011/48/EU), mas em 2015 foi pedida informação adicional em relação à efetividade das medidas de mitigação para reduzir o risco para a vida selvagem (COEURDASSIER et al., 2014).

A quantidade de iscos permitida por tratamento é 20 kg/hectare, mas consegue-se controlar as populações com menos quantidade (menos de 6 kg/hectare) (COEURDASSIER et al., 2014).

Na Austrália, apesar de nenhum rodenticida estar registado para uso em plantações de cereais, alguns estão a ser usados nas plantações sob registo temporário, quando o número de roedores é alto (P. R. Brown & Singleton, 1998).

Em Portugal, os pesticidas eram de fácil acesso, o que facilitava a disseminação dos produtos. Felizmente a Lei n.º 26/2013, de 11 de abril, que entrou em vigor a 26 de novembro de 2015 veio alterar muito o acesso a produtos fitofarmacêuticos.

Smith et al 1992, elaboraram um modelo conceptual da ecotoxicologia dos rodenticidas, que se baseia em 6 passos de transferência (Figura 5):

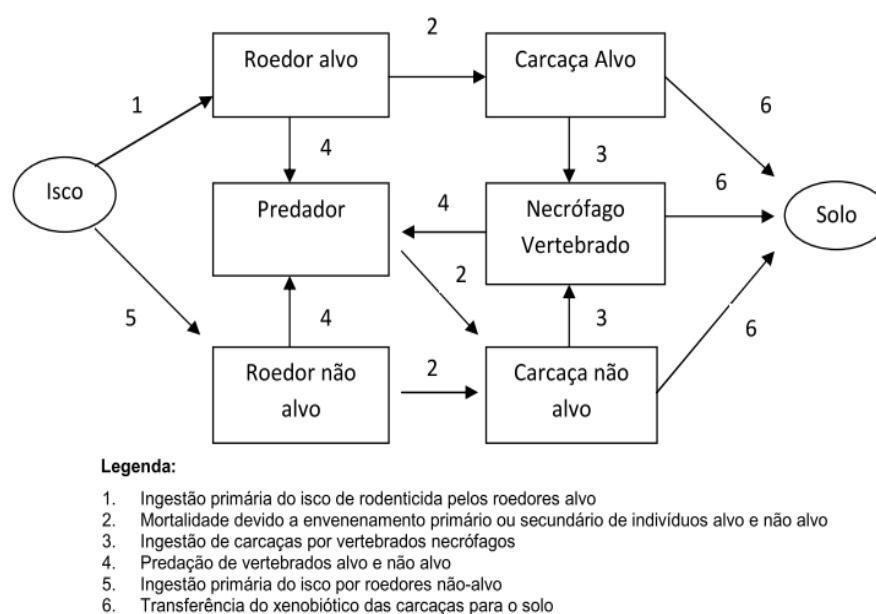


Fig 5. Modelo conceptual da ecotoxicologia dos rodenticidas (Adaptado de (Pereira,

Ao examinar este modelo, podemos compreender como as aves de rapina estão expostas aos rodenticidas. No que diz respeito à toxicidade temos que considerar (Pereira, 2010):

1. As propriedades toxicológicas do xenobiótico.
2. A concentração do xenobiótico e apresentação do mesmo
3. O comportamento das espécies não-alvo em risco
4. Os fatores ambientais locais

Quanto à exposição deve-se ter em conta (Pereira, 2010):

1. Quais as espécies não-alvo de que se alimentam as aves predadoras nos territórios em causa
2. Se a presa é consumida na sua totalidade ou se algumas partes do corpo são rejeitadas
3. Onde estão concentrados os resíduos do xenobiótico na presa
4. Qual a quantidade de indivíduos que a ave de rapina normalmente ingere
5. Se o resíduo presente nas presas é suficiente para causar efeitos letais ou sub-letais no indivíduo predador.

O risco de envenenamento secundário irá depender de vários fatores (Figura 6).

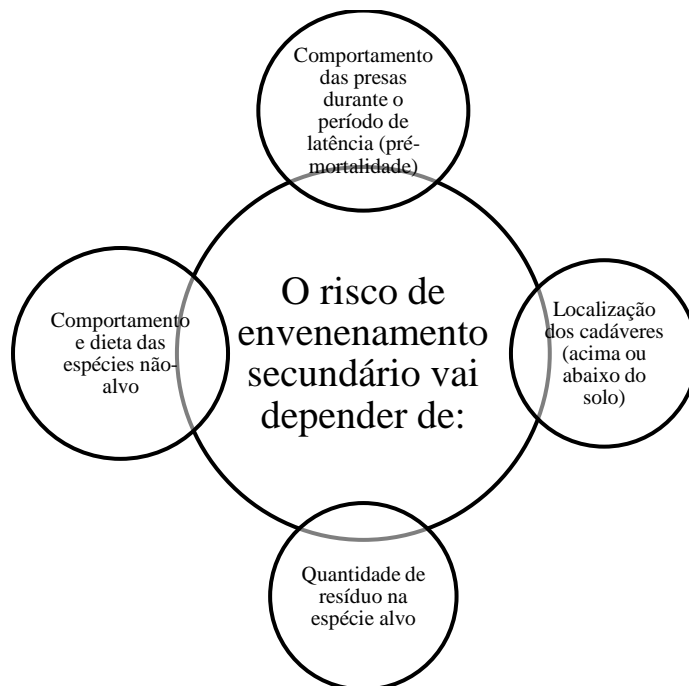


Fig 6: Fatores dos quais depende o risco de envenenamento secundário de uma espécie (Howald et al., 1999)

Há uma maior probabilidade de intoxicação secundária por rodenticidas do que por toxinas (Solymar, 2001).

A presença de resíduos de rodenticidas anticoagulantes em ovos de aves, por exposição sub-letal tem sido amplamente investigada (Salim et al., 2015).

Kammerer et al. (1999) investigaram a depleção de resíduos nos ovos de aves domésticas após a ingestão de warfarina. Esta esteve presente na clara do ovo por 3-4 dias e em comparação a gema apresentava um aumento de concentração ao dia 6 antes de começar a diminuir e passar a indetetável ao dia 14. Fisher (2009) administrou brodifenacume (0,50 mg/kg) em galinhas selvagens (*Gallus gallus*) para as “domesticar” e detetou uma quantidade grande de resíduos nos ovos (0.06 µg/g) após 14 dias (Salim et al., 2015).

Do mesmo modo, Mario e Grazia (2010) apresentaram resíduos de bromadiolona na gema dos ovos das galinhas domésticas no 3º e no 9º dia após a inoculação de doses altas (10-60 mg/kg) (Salim et al., 2015).

A possibilidade de contaminação dos ovos por rodenticidas no kiwi (*Apteryx mantelli*) foi sugerida por Robertson et al 1999, contudo atribuíram a falta de deteção de resíduos à baixa quantidade de amostra testada no campo. Naim et al 2012 reportaram mais de 60% (n=36) dos ovos abandonados de Coruja-das-Torres (*Tyto alba*), coletados em plantações de óleo de palma onde foram aplicados warfarina e brodifenacume, continham vestígios de ambos os rodenticidas. Os autores concluíram também que a exposição ao brodifenacume leva a ovos mais arredondados (Salim et al., 2015).

(Salim et al., 2015), com base na concentração dos resíduos detetados, concluíram que a bromadiolona aparentava ser mais persistente que a clorofacinona nos ovos das Corujas- das-torres. Os achados estão de acordo com Erickson e Urban 2004 que concluíram que a clorofacinona era menos persistente em tecidos animais que a bromadiolona.

Fisher 2009 detetou resíduos de brodifenacume nos ovários e ovos de galinhas na mesma concentração (mais de 0,061 µg/g). O autor sugeriu que o brodifenacume presente nos ovários terá sido parcialmente transferido para os ovos. E por isso o facto dos rodenticidas afetarem a viabilidade do ovo não pode ser posto de parte (Salim et al., 2015).

Kammerer et al (1999) e Mario e Grazia (2010) indicaram que resíduos de rodenticidas foram detetados em ovos produzidos por galinhas domésticas mais de 2 semanas após ter sido administrada oralmente uma única dose de warfarina e bromadiolona. Apesar disso, se os resíduos irão afetar negativamente o desenvolvimento dos ovos fertilizados ou a condição física das crias nascidas é desconhecido. Ambos os estudos envolvem 1 dose única e em quantidade baixa (sub-letal). Numa situação de caça, as Corujas-das-Torres podem consumir vários ratos envenenados, o equivalente a alimentações repetidas de uma dose sub-letal de rodenticidas. Nessas circunstâncias os rodenticidas podem-se acumular nos tecidos (Salim et al., 2015).

No estudo de (Salim et al., 2015) não foram encontradas diferenças na forma dos ovos recolhidos nos diferentes locais durante as 4 épocas de reprodução (março e setembro de 2011 e 2012). Mas apesar disso num outro estudo, Naim et al 2012 descobriram uma significativa correlação entre as concentrações de brodifenacume e warfarina encontradas e a forma dos ovos, isto é, ovos mais redondos com a concentração de resíduos mais alta. Mas esta associação não foi demonstrada neste estudo com bromadiolona e clorofacinona (Salim et al., 2015).

Além disso neste estudo também não foram encontradas diferenças na massa dos ovos recolhidos nos diversos locais, durante as 4 épocas de reprodução. Mas há estudos em que os resíduos de brodifenacume e de warfarina detetados em ovos podres e que levaram a uma diminuição da massa da casca do ovo, especialmente quando a concentração dos resíduos eram de pelo menos 0,199 µg/g (Salim et al., 2015). Os valores mais altos de bromadiolona e clorofacinona detetados no estudo de (Salim et al., 2015) foram mais baixos que no outro estudo (0,052 e 0,020 µg/g, respetivamente), o que poderá explicar o facto de a massa da casca do ovo não ter sofrido alterações. (Salim et al., 2015), concluíram também que a espessura da casca do ovo não sofreu alterações em nenhuma das zonas de recolha dos ovos, durante as 4 épocas de reprodução das Corujas-das-Torres. Os resultados indicam que a bromadiolona e a clorofacinona não afetam a espessura da casca dos ovos, ao contrário de outros pesticidas ou de poluidores ambientais como o mercúrio e rodenticidas como o brodifenacume e a warfarina (Salim et al., 2015).

Naim et al (2012), verificaram que também não havia diferenças significativas entre as áreas tratadas com rodenticidas e as áreas não tratadas. Nos EUA, de acordo com Klass et al (1978) a média de espessura da casca do ovo das *T.alba* (n=129) antes de 1970 (pré DDT) em New Jersey, Nova York e Pensilvânia era de 0,929 mm. A média quando o uso do DDT era grande, passou a 0,276 mm que é quase 5,5% mais fina (Salim et al., 2015).

Vários fatores podem afetar a espessura da casca dos ovos, incluindo a época do ano, o estado de fertilidade da mãe, nutrição (em particular deficiências em cálcio, fósforo, vitamina D e manganês) e condições de reprodução (Salim et al., 2015). A idade dos pais desempenha um papel importante na determinação da qualidade da casca do ovo. Aves mais velhas produzem cascas mais finas enquanto que as mais novas produzem cascas mais grossas (Salim et al., 2015). Os autores descobriram também que o stress derivado ao barulho, medo ou excitação e doença também estão associados a cascas de ovos mais finas. Um aumento de temperatura está também associado a cascas mais finas (Salim et al., 2015). Outras substâncias como os poluentes ambientais (DDT, PCB's, etc) podem contribuir para este processo (Salim et al., 2015).

Durante o período 1963-1996 mais de 1100 carcaças de Corujas-das-Torres foram recebidas pelo Institute of Terrestrial Ecology (ITE) no Reino Unido (Newton et al 1997). Desses, 53,7% foi diagnosticado como morto por atropelamento, 25,8% morreu à fome e 6,1% envenenado (Cooper, 2002).

A proporção de Corujas-das-Torres que continham resíduos de rodenticidas tem aumentado de 1% em 1983-84 para 32% em 1993-94. Mas apesar disso, apenas 8 animais morreram de envenenamento por rodenticidas (Cooper, 2002).

3. Avaliação de Risco

Para calcular e gerir melhor os riscos, a análise de riscos tornou-se uma ferramenta importante em diferentes áreas das ciências veterinárias (R. Eric Miller; Murray Fowler, 2012).

Muitos estudos sobre a vida selvagem estão direcionados para atender a 3 questões:

1. Doenças nas populações selvagens
2. Elos entre a saúde dos animais selvagens, domésticos e o ser humano.
3. Elos entre a saúde das espécies selvagens em cativeiro e em liberdade.

A análise de risco é um procedimento formal para estimar a probabilidade e consequências dos efeitos adversos que ocorrem numa população específica e leva em consideração a exposição a perigos potenciais e a natureza dos seus efeitos (R. Eric Miller; Murray Fowler, 2012).

A avaliação do risco de uma qualquer espécie ser envenenada por um qualquer toxico, baseia-se em (Figura 7):

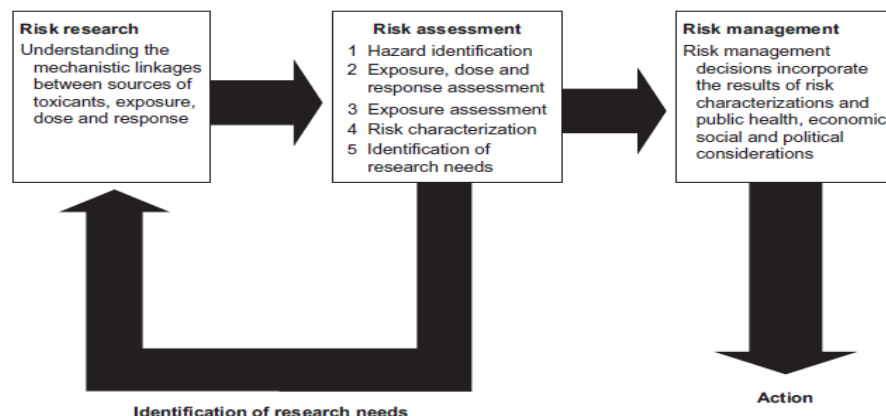


Fig 7: Modelo de avaliação de risco (Adaptado de (Ramesh C. Gupta, 2012))

A identificação do perigo é a identificação do que poderá correr mal. Já a avaliação de risco é um conjunto de cálculos necessários para estimar vários parâmetros de uma doença infecciosa, por exemplo, a disseminação, a exposição e as suas consequências. O manejo do risco foca-se em respostas que poderão diminuir a probabilidade de um efeito adverso e reduzir as consequências se esse tal efeito ocorrer. E a comunicação de risco é um processo contínuo, necessitando uma comunicação respeitosa entre as várias partes ao longo da análise de risco (R. Eric Miller; Murray Fowler, 2012).

O risco define-se como a probabilidade de os efeitos ocorrerem face a uma dada situação de exposição:

Risco = Toxicidade x Exposição

(do produto) (do utilizador)

A análise de risco poderá ser qualitativa ou quantitativa. A qualitativa indica a probabilidade de um resultado expressa em termos como alta, média, baixa, etc. A quantitativa indica um resultado expresso numericamente (em percentagem) (R. Eric Miller; Murray Fowler, 2012).

Avaliação de risco e estabelecer uma dose letal são difíceis de realizar para o envenenamento secundário de espécies não-alvo. Estas espécies poderão apenas precisar de consumir uma pequena quantidade para exceder a dose letal do brodifenacume, por exemplo, comparando com o pouco provável evento de consumir uma grande quantidade necessária de bromadiolona para atingir a dose letal (Langford, Reid, & Thomas, 2013).

Estratégias de redução de risco apropriadas são importantes para a conservação de espécies não-alvo, mas pouco se sabe sobre os fatores que modelam a exposição (Geduhn, Esther, Schenke, Gabriel, & Jacob, 2016).

Existem vários fatores que afetam a atuação do tóxico num determinado indivíduo, tanto intrínsecos ao animal como extrínsecos e são (Figura 8 e 9):

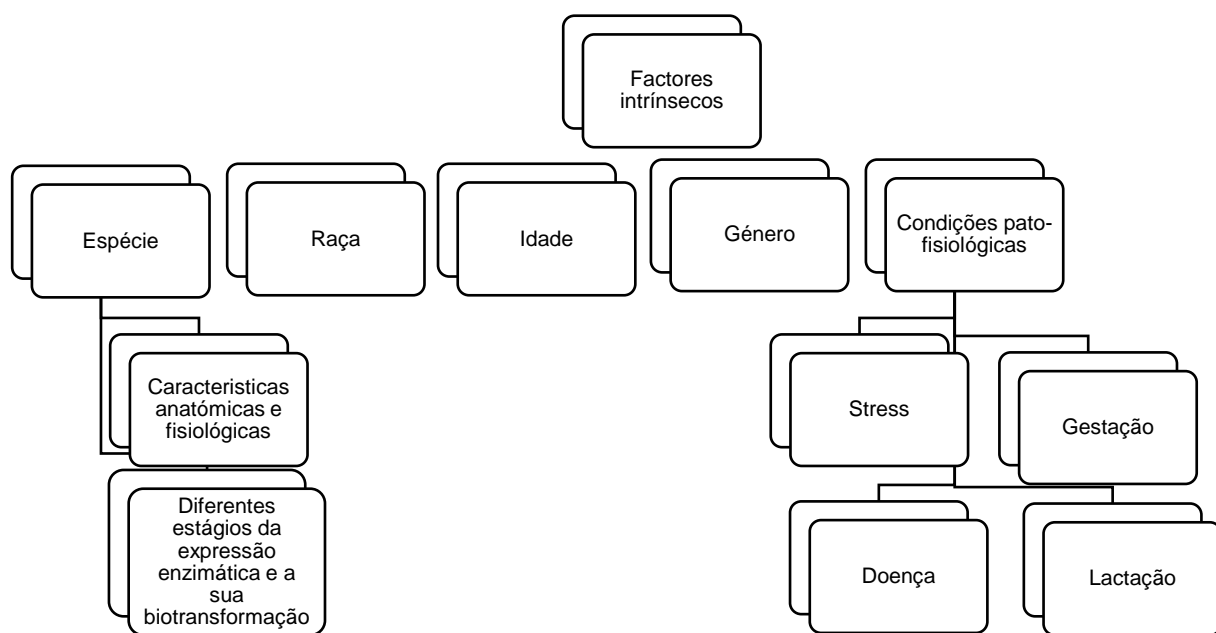


Fig.8: Fatores intrínsecos ao indivíduo que afetam a toxicidade (Adaptado de (Ramesh C. Gupta, 2012))

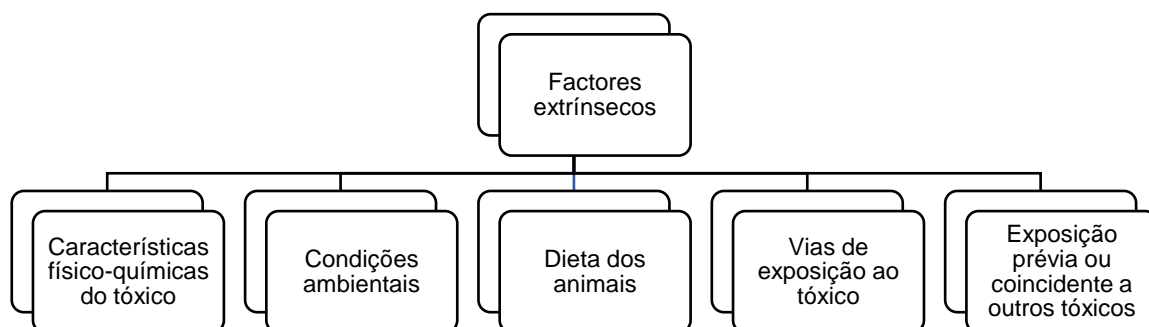


Fig.9: Fatores extrínsecos ao indivíduo que afetam a toxicidade (Adaptado de (Ramesh C. Gupta, 2012))

Foi sugerido que os rodenticidas são um fator de mortalidade adicional que afetam populações que estão a enfrentar limitações críticas (Brakes & Smith, 2005).

(Thomas et al., 2011), sugeriram um modelo probabilístico para calcular a probabilidade de um animal se tornar sintomático em função das concentrações de resíduos de rodenticidas. Os autores descobriram que algumas espécies como *Bubo virginianus* (espécie de rapina noturna) tinham 5% de probabilidade de exibir sinais de envenenamento com resíduos na ordem das 20 ng/g (no fígado), o que fica abaixo do nível de toxicidade sugerido por Newton *et. al.* (1999) de 100-200 ng/g.

Os mesmos autores chegaram à conclusão que as Corujas-das-Torres têm uma hipótese de 11-22% de apresentarem sintomas, com base nos valores acima apresentados,

sugerindo que o envenenamento secundário destes animais tem um alto risco (Huang et al., 2016).

Apesar de se usar estes limites de referência, a tolerância aos rodenticidas é altamente variável entre os indivíduos para qualquer espécie de aves. Por exemplo, foram encontradas mortas, Corujas-das-Torres, devido a envenenamento por rodenticidas que tinham concentrações hepáticas do tóxico entre 60 ng/g e 1720 ng/g o que poderá indicar uma grande variação individual da sensibilidade aos rodenticidas (Huang et al., 2016).

4. Ecologia da espécie

Taxonomia:

Família: *Tytonidae*

Espécie: *Tyto alba* (Scopoli 1769).

É o único elemento da sua família (*Tytonidae*) em Portugal.

Estado de conservação:

Global (UICN 2004): LC (Pouco preocupante).

Nacional (Cabral et al. 2005): LC (Pouco preocupante).

Espanha (Madroño et al. 2004): LC (Pouco preocupante).

SPEC (BirdLife International 2004): 3 (Espécie com estatuto de conservação desfavorável, não concentrada na Europa).



Fotografia 1: *Tyto alba* (cedida por Dr. Ricardo Brandão)

Dados Biométricos (STRI-Rapinas Noturnas acedido em

<http://rapinasnocturnas.blogspot.pt/search/label/%E2%80%A2%20Coruja-das-torres> a 2-6-2016 às 18:25; *The barn owl* 2002):

Comprimento: 33 a 35 cm

Envergadura: 85 a 93 cm

Peso: ♂ 240-313g | ♀ 245-360g

Longevidade: >17 anos

A coruja das torres é uma ave que está relacionada com mistério e intriga em muitas pessoas (Group, Biodiversity, & Taxon, 2002).

Este animal é um dos mais secretos e altamente efetivos predadores noturnos do mundo (Group et al., 2002).

Para sobreviver a coruja das torres depende de altas frequências de som para detetar as presas na escuridão (Shaw, 2010).

Distingue-se das outras corujas por ter um disco facial em forma de coração e a cauda é curta e quadrada.

Para determinar o género destas aves usa-se o peso (as fêmeas são mais pesadas), o tamanho (fêmeas são maiores) e a morfologia das penas do peito, em que as fêmeas têm pintas no peito e os machos são todos brancos (Group et al., 2002).

O aparelho auditivo destes animais está posicionado assimetricamente na cabeça, o ouvido direito é mais sensível aos sons que vêm de cima e o esquerdo aos que vêm de baixo. Isto permite à coruja determinar a altura e o ângulo da origem do som num plano vertical e horizontal (dependendo da orientação da cabeça) quando estão sobre a presa (Shaw, 2010).

Um aspeto importante na ecologia de uma espécie animal é a amplitude do seu espectro alimentício. Este vai ser determinado pela disponibilidade existente no habitat e também pelas tendências próprias das espécies que são o reflexo das suas características morfológicas, fisiológicas e também “mentais”. Estes aspetos, junto de outros parâmetros, nomeadamente, a disponibilidade de presa, o habitat selecionado, vão determinar o chamado “nicho ecológico” (Pereira, 2010). A avaliação destes parâmetros, fornece dados importantes, principalmente no que diz respeito ao grau de antropofilia dos animais que podem favorecer a exposição a este tipo de xenobióticos.

A Coruja-das-Torres, é pelo habitat selecionado, aquela que apresenta um grande carácter antropofílico, caçando em zonas urbanizadas e suas periferias (Hindmarch & Elliott, 2014).

Foi estimado que em 10 anos ela comerá cerca de 11.000 ratos. Estes 11.000 roedores iriam comer aproximadamente 10% do seu peso por dia (13 toneladas de plantações, sementes e grãos durante a sua vida). Estes animais serão 99,4% da constituição da dieta das corujas (Group et al., 2002).

Após digerir o animal, a coruja regurgita um aglomerado que contém ossos, dentes e pelo (partes não digeríveis), chamado de egagrópila (ou regurgitação) (Shaw, 2010).



Fotografia 2: Coruja-das-Torres (cedida por Dr. Ricardo Brandão)

Tabela 1: Ecologia da espécie estudada (Coruja-das-Torres (*Tyto alba*)) (Adaptada de (Pereira, 2010))

Alimentação	Habitat	Observações
<p><u>Mamíferos</u>: Murganho (<i>Mus spp</i>), Rato do Campo (<i>Apodemus sylvaticus</i>), Musaranho de Dentes Brancos (<i>Crociodura russula</i>), Musaranho de Dentes Vermelhos (mais raro- <i>Sorex granarius</i>), Rato Silvestre (<i>Microtus ervalis</i>), Ratazana (<i>Rattus norvegicus</i>)</p> <p><u>Aves</u>: Passeriformes (Pereira, 2010)</p>	<p>Zonas urbanizadas, nidificando em casas rurais, torres de igrejas, ruínas, etc. Contudo pode englobar nos seus terrenos de caça zonas agrícolas e de bosque (Pereira, 2010)</p>	<p>Espécie com elevado grau de antropofília (Pereira, 2010)</p>

A predação é um processo complexo que relaciona um grande número de fatores que caracterizam a relação predador-presa (tamanho do grupo, o tipo de presa, género e idade da presa, nível de vigilância, tipo de habitat, táticas do predador, etc.) (Pereira, 2010).

Uma das variantes nesta interação é a condição geral em que se encontra a presa. Normalmente existe a tendência para assumir que os predadores selecionam positivamente indivíduos débeis, com uma condição física fraca, contribuindo assim para a seleção natural (Lambert et al., 2007; Pereira, 2010). O grau em que um animal é capturado parece estar relacionado com a dificuldade de predação do mesmo. Assim animais que apresentam algum tipo de debilidade serão preferencialmente predados, fazendo com que as taxas de sucesso sejam elevadas com um dispêndio menor de energia por parte do predador (Pereira, 2010).

Alimentam-se principalmente de *Rattus norvegicus* e *Mus musculus*. O último raramente ocorre na dieta das corujas na Alemanha, Grã-Bretanha, Itália e Estados Unidos, mas pode ser comum no Sudeste da Europa (Geduhn et al., 2016).

Infelizmente nem sempre as Corujas-das-Torres foram protegidas. Até ao fim da década de 1970, as corujas eram frequentemente atingidas a tiro pelos donos das terras porque eram consideradas animais não desejados ("bicharada"). Visto que as corujas caçam durante a noite, a sua capacidade de controlar o número de roedores não era conhecida pelos agricultores. À medida que a educação sobre estes animais aumentou, as ações negativas sob estes animais diminuíram (Group et al., 2002).

Estas aves demonstram uma grande resiliência a mudanças no uso da terra ao adaptar-se e persistirem em zonas cada vez mais urbanizadas. Isto leva a que haja um aumento dos atropelamentos e das colisões com edifícios (Hindmarch & Elliott, 2014). A exposição a

contaminantes químicos como o chumbo também aumenta neste ambiente (Hindmarch & Elliott, 2014).

Distribuição

A Coruja-das-Torres é uma das rapinas mais espalhadas mundialmente. Podem encontrar-se em todos os continentes menos em climas frios (Group et al., 2002; Hindmarch & Elliott, 2014; Shaw, 2010).

Incidência de doenças ou de parasitas

Marti (1992) demonstra evidências de vários protozoários sanguíneos (*Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Trypanossoma*), um protozoário intestinal (*Sarcocystis*), espécies de piolhos (*Kirodaia subpachygaster* e *Strigiphilus aitkeir*) e uma espécie de mosca (*Carnus hemapterus*) que são conhecidos por infestarem as Corujas-das-Torres, tanto crias como adultos. Não é conhecido se essas doenças terão a capacidade de causar um grande impacto numa população por si só ou em combinação com outros stresses (Solymár & Mccracken, 2002).

Proteção legal:

- Decreto-Lei nº 140/99 de 24 de abril, Transposição da Diretiva Aves 79/409/CEE (Comunidade Económica Europeia) de 2 de abril de 1979, com a redação dada pelo Decreto-Lei nº 49/2005 de 24 de fevereiro.
- Decreto-Lei nº 316/89 de 22 de setembro, transposição para a legislação nacional da Convenção de Berna
- Decreto-Lei n.º 114/90 de 5 de abril, transposição da Convenção de Washington (CITES- Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora),
- Regulamento CE (Comunidade Europeia) nº 1332/2005 de 9 de agosto (alteração ao Regulamento CE nº 338/97 de 9 de dezembro)
- O uso de veneno está expressamente proibido a nível europeu (Diretiva 79/409/CEE, art.º. 8 de conservação das aves silvestres; Diretiva 92/43/CEE, art.º. 15 para a conservação dos habitats naturais e da fauna e flora silvestres). Em Portugal, ao abrigo da transposição das diretivas anteriormente referidas (Decreto Lei 140/99 de 24 de abril), da transposição da Convenção de Berna (Decreto-lei nº 316/89 de 22 de setembro), bem como da Lei da Caça (Lei 173/99 de 21 de setembro), não é permitido o uso de qualquer substância como forma de extermínio. Existe também legislação

específica para proteção do Lobo Ibérico (Lei nº 90/88 de 13 de agosto) que proíbe a comercialização, detenção e emprego de estricnina como meio de extermínio.

Fenologia: residente, invernante.

Abundância:

Embora não sejam efetuados censos a nível nacional, mas apenas localizados, a população nacional de Corujas-das-Torres, em 2001, estava estimada em 2000-6000 casais (Mancha, 2001).

Uso comercial, de consumo ou de subsistência desta espécie por parte dos humanos:

Estes tipos de usos não estão permitidos em Portugal. Mas aves irrecuperáveis (não se podem devolver à natureza) podem ser utilizadas com o propósito educacional em centros de recuperação, jardins zoológicos, áreas de conservação, feiras ou outros locais públicos (Solymár & Mccracken, 2002).

Efeito das atividades antropológicas:

A agricultura intensiva e o desenvolvimento das áreas rurais continuam a reduzir a quantidade e a qualidade do território das Corujas-das-Torres. O efeito da poluição nestes animais não foi estudado. O uso de rodenticidas poderá ter efeitos negativos na população das corujas (Solymár & Mccracken, 2002).



Fotografia 3: Cria de Coruja-das-Torres (cedida por Dr. Ricardo Brandão)

Recomendações para controlar as populações de roedores e minimizar o risco de envenenamento de espécies selvagens “não-alvo”:

Sanidade nas explorações para evitar roedores:

1. Evitar que roedores façam o ninho, mantendo as áreas de trabalho envolventes à exploração limpas e evitar objetos abandonados como equipamentos velhos, tubos, tabuas e montes de madeira (Solymar, 2001).
2. Fechar aberturas e orifícios e eliminar pontos de entrada extra como condutas de ar, beirais, etc. (Solymar, 2001).
3. Em pomares eliminar fontes de alimento (fruta caída no chão) (Solymar, 2001).

4. Manter um controlo adequado das ervas daninhas (Solymar, 2001).
5. Ratoeiras (Hoff & Beersma, n.d.).

Produção de uma “bola de farinha”, que consiste numa parte de açúcar, duas de lima e três de farinha. Os roedores ao alimentarem-se destes bolos irão ficar obstipados e morrerão em dois dias (Hoff & Beersma, n.d.).

Controlo biológico:

Predadores naturais (doninhas, raposas, corujas e mochos, cobras, etc.) podem ajudar a reduzir as populações de roedores, evitando assim o uso de pesticidas. Tentar encorajar o estabelecimento destes predadores providenciando um habitat adequado (Solymar, 2001).

Nota: há autores que aconselham a existência de gatos nas explorações, mas existem outros que o desaconselham. Na minha opinião não é uma boa política a existência de gatos pois além de se alimentarem de roedores eles alimentam-se de aves (o que não iria resolver o problema da diminuição de corujas e outras aves).

Causas de perda ou diminuição das populações (Group et al., 2002; Shaw, 2010; Solymár & Mccracken, 2002):

- Perda de habitat devido a mudanças na prática da agricultura que faz diminuir o número de corujas pois reduz a quantidade de habitats ricos em presas.
- Perda de ninhos ou locais de nidificação, normalmente em árvores velhas. Algumas poderão utilizar edifícios abandonados, mas estes vão sendo destruídos ou requalificados.
- Envenenamento secundário, estudos recentes demonstraram que 10% dos animais encontrados, no Reino Unido, apresentavam veneno no fígado e sangue. No continente americano o envenenamento por rodenticidas não está muito documentado. Em Inglaterra este tipo de envenenamento esteve implicado, ao longo de 23 anos, em 6% das mortes de corujas.
- Perda de habitat devido a desflorestação
- Urbanização e construção de estradas
- Invernos severos e prolongados (muito frio, humidade ou neve), pois as suas penas são menos isoladoras, as suas pernas não têm uma grande camada de penas, têm menos tecido adiposo e têm um metabolismo mais rápido (o que reduz o sucesso na caça durante o inverno). A neve persistente e temperaturas baixas poderá também significar um atraso na época de reprodução e reduzir o número e o sucesso das tentativas de procriar.

- Densidade populacional, normalmente as suas densidades podem chegar a cerca de 2-5 pares/Km² e aumentar até cerca de 10-30 pares/Km².
- Predação, principalmente por cobras, guaxinins, gatos e gambás que comem os ovos e atacam as crias.
- Atropelamentos
- Tiro

Nota: é também importante fiscalizar as atividades cinegéticas devido a questões relacionadas com o tiro;

O que fazer se encontrar um animal selvagem ferido?

1. Evitar ao máximo perturbá-lo, minimizando o barulho, tempo de manipulação e contacto com as pessoas;
2. Usar uma toalha ou pano para cobrir a cabeça do animal (evita estímulos visuais, acalmando-o) e colocá-lo numa caixa de cartão adequada ao seu tamanho, com pequenos furos para que possa respirar. Ter muita atenção ao bico/focinho e às garras para não ser magoado.



Fotografia 4: Coruja-das-Torres (cedida por Dr. Ricardo Brandão)

3. Entrar de imediato em contacto com:
 - **SEPNA-GNR (Serviço de Proteção da Natureza e do Ambiente- Guarda Nacional Republicana): 217503080**
 - **SOS Ambiente: 808200520**
 - **Centro de recuperação mais próximo**
 - **Parque Natural ou Área Protegida mais próximo.**
4. Não manter o animal em sua posse mais tempo do que o estritamente necessário e apenas prestar os primeiros-socorros se tiver conhecimento para tal.

As Corujas-das-Torres têm sido monitorizadas no programa PBMS (Predatory Bird Monitoring Scheme) desde 1983 para vigilância sobre rodenticidas de 2ª geração. Os rodenticidas de 2ª geração têm estado em estudo neste programa devido à sua persistência e potência, aumentando o seu potencial para causar envenenamentos secundários em aves (Richard F. Shore, Claire L. Wienburg, 2002).

A proporção de Corujas-das-Torres examinadas, que continham resíduos de rodenticidas de 2ª geração aumentou de 5% em 1983 para 40% em 2002, refletindo o aumento do uso destes compostos durante este período (Richard F. Shore, Claire L. Wienburg, 2002).

Num estudo realizado em 2010, Walker LA et al, concluíram que 90% das Corujas-das-Torres, apresenta resíduos de 1 ou mais rodenticidas de 2ª geração (Buckle, 2013).

Estas e outras aves e alguns mamíferos predadores têm maior risco de exposição e possível envenenamento, por causa do aumento do uso de rodenticidas e pelo aparecimento de resistências a alguns destes compostos. A resistência poderá levar a que espécies-alvo apresentem quantidades maiores no organismo e que estejam mais tempo expostos à captura porque demoram mais tempo a morrer após a ingestão do isco (Richard F. Shore, Claire L. Wienburg, 2002).

Alguns estudos demonstraram que as Corujas-das-Torres são mais suscetíveis ao brodifenacume em comparação com a bromadiolona, difenacume e outros (Webster et al., 2015).

Nas duas últimas décadas, no Canadá, a caça e a formação de ninhos, por parte das Corujas-das-Torres, diminuíram 53% e 30%, respetivamente, devido à destruição de antigos celeiros, à industrialização da agricultura e à construção de celeiros modernos (Huang et al., 2016).

Além disso, um grande número de corujas-das-torres é morto, atropelado (Huang et al., 2016).

5. Roedores

Existem mais de 1700 espécies de roedores em Portugal, das quais 125 são consideradas pragas (http://www.bayervet.com.pt/pt/animais_producao/biosseguranca/roedores, consultada a 14 janeiro de 2016). Os rodenticidas são usados para controlo tanto de espécies domésticas como a ratazana dos esgotos (castanha) (*Rattus norvegicus*), a ratazana preta (*Rattus rattus*) e o ratinho (rato caseiro) (*Mus musculus*), como de espécies silváticas como o rato-do-campo-comum (*Microtus arvalis*), rato-dos-bosques (*Apodemus sylvaticus*), entre outros.

Algumas curiosidades sobre os roedores (Atlanlusi, 2012):

- Foi estimado que os roedores são responsáveis pela perda de 4% da produção mundial de grãos.

- Possuem dentes capazes de roer madeira, chumbo, alumínio, argamassa, plástico e até cimento.
- Se acasarmos um casal de ratos em janeiro, em dezembro teremos 1800 descendentes e no período de 10 anos serão 18 000.” (Benson Labs, n.d.)
- Na Idade Média, através da transmissão da peste negra, os ratos aniquilaram 25-50% da população europeia.
- As colónias competem entre si e quando não há oferta de alimento suficiente, comem os seus próprios descendentes.

Algumas espécies de roedores acumulam comida, o que significa que várias gerações podem ser envenenadas, resultando numa potencial exposição prolongada para os predadores (Langford et al., 2013).

Roedores expostos a uma dose letal de brodifenacume apresentam uma redução do comportamento tigmotático (andar em contacto a uma superfície vertical, como uma parede) e passam a maior parte do tempo em áreas abertas (Howald, Mineau, Elliott, & Cheng, 1999). Após serem expostos, 50% dos roedores morreram em espaços abertos.

6. Compostos rodenticidas

Os rodenticidas são utilizados em todo o mundo para controlo de pragas, como os roedores e as toupeiras. A sua origem e desenvolvimento têm início nos anos 20 com a investigação de Karl Paul Link a uma “doença hemorrágica” em bovinos que consumia imprópriamente trevo amarelo (Gamelin & Harry, 2005; Lambert et al., 2007; Rattner et al., 2014). Nos anos 40, Link isolou, cristalizou e sintetizou dicumarol (similar em estrutura à vitamina K), o que levou à síntese de mais de 100 análogos com propriedades hemorrágicas, incluindo entre eles a warfarina. Mas só começam a ser comercializados logo após a 2ª guerra mundial (anos 50), sendo a warfarina o primeiro rodenticida disponível para venda (Gamelin & Harry, 2005; Langford et al., 2013; Ramesh C. Gupta, 2012; Rattner et al., 2014; Ward B Stone et al., 1999).

Os rodenticidas normalmente têm apresentações coloridas para atraírem os roedores. Podem conter sacarose, carne, vegetais, sementes ou frutas, o que os torna atrativos para outros animais causando intoxicações intencionais ou acidentais (Gallocchio, Basilicata, Benetti, Angeletti, & Binato, 2014).

As apresentações utilizadas em Portugal são as armadilhas que devem ser colocadas em locais onde a probabilidade de os roedores passarem seja elevada, os iscos

em grão de cereal (“pellet”), iscos prontos a usar (“pastilhas”) e os iscos em bloco. Os blocos, por exemplo, estão mais indicados para zonas onde o teor de humidade é muito elevado, por serem mais resistentes à humidade do que as outras formas de apresentação. O isco pronto a usar é, geralmente, mais atrativo, pelo que poderá ser a melhor opção quando existem outros alimentos disponíveis (e aos quais não é possível evitar o acesso) ((Atlantusi, 2012); DGAV (Direção Geral de Alimentação e Veterinária)- lista de permissão de venda de rodenticidas; https://www.azores.gov.pt/NR/rdonlyres/E1724533-92C2-4E6E-811F-EF92E2CE3DAC/659882/manual_boaspraticas_controle_roedores1.pdf acedido a 15-12-2016 às 12:30).

Valores de LD₅₀ (dose letal mediana) para rodenticidas são de menos de 1 mg/kg, com valores mais altos registados para cães, ovelhas e gatos (Figura 10) (Eason et al., 2002).

Algumas aves são altamente suscetíveis ao brodifenacume, com um LD₅₀ de menos de 1 mg/kg, mas a maioria tem um LD₅₀ entre 3 e 20 mg/kg (Eason et al., 2002).

A EPA (2004) considerou que o LD₅₀, em aves, do brodifenacume seria de 0,2-4,6 mg/kg e o LD₅₀ da bromadiolona seria de 81- 261 mg/kg.

De seguida apresenta-se uma tabela dos LD₅₀ dos rodenticidas estudados em diferentes animais adaptada de Gupta 2011 (Figura 10).

TABLE 56.1 Oral LD₅₀ values (mg/kg body weight) of some anticoagulant rodenticides

Animal	LD ₅₀ (mg/kg body weight)		
	Bromadiolone	Brodifacoum	Difencoum
Rat (acute)	0.65	0.27	1.8
Rat (chronic)	(0.06–0.14) × 5	(0.05–0.08) × 5	0.15 × 5
Mouse	0.99	0.4	0.8
Rabbit	1.0	0.2	2.0
Pig	3.0	10.0	80.0
Dog	10.0	3.5	50.0
Cat	25.0	25.0	100.0
Chicken	5.0	10.0–20.0	50.0
Guinea pig	2.8	–	–
Opossum	–	0.17	–
Sheep	–	10.0	100.0

Fig 10: LD50 dos rodenticidas estudados em diferentes animais (Adaptado de (Ramesh C. Gupta, 2012))

Seguidamente será apresentada uma tabela (Tabela 2) na qual está caracterizado o valor de LD₅₀, para brodifenacume, em diferentes aves que ocorrem em Portugal (Eason et al., 2002; Howald et al., 1999; Pereira, 2010).

Tabela 2: Caracterização do valor de LD₅₀ para o brodifenacume em diferentes aves que ocorrem em Portugal

Espécie	LD ₅₀ (mg/kg)
Melro (<i>Turdus merula</i>)	>3
Ferreirinha-Comum (<i>Prunella modularis</i>)	>3
Pato-Bravo (<i>Anas platyrhynchos</i>)	4,6
Pardal (<i>Passer domesticus</i>)	>6
Faisão-comum (<i>Phasianus colchicus</i>)	10
Galinhas (<i>Gallus gallus</i>)	3,15

Os rodenticidas dividem-se (segundo o seu mecanismo de ação) em 3 grandes grupos: anticoagulantes, metal-fosfinas e hipercalcemiantes. Este trabalho foca-se apenas nos rodenticidas anticoagulantes devido a serem os permitidos em Portugal. São exemplos de rodenticidas não anticoagulantes os seguintes tóxicos: estricnina (alcaloide), brometialina, colecalciferol (vitamina D₃), drímia marítima (planta), fluoro acetato, alfa-naftilo tioureia (ANTU), fosfato de zinco e tálio, sendo estes usados antes da descoberta dos anticoagulantes (Ramesh C. Gupta, 2012).

Podem ser classificados segundo a sua estrutura química, dividindo-se em dois grupos:

- **As hidroxycumarinas:** são compostos que contêm um anel 4- Hidroxycumarínico, com diferentes ligantes na posição 3 da cadeia de acordo com o composto em causa. São exemplos de 1ª geração a warfarina, o comatetranil, entre outros. E de 2ª geração, o brodifenacume, a bromadiolona, o difenacume, entre outros (Elliott et al., 2014; Gamelin & Harry, 2005; Imran, Shafi, Wattoo, Chaudhary, & Usman, 2015; Lotfi et al., 1996; Ramesh C. Gupta, 2012).
- **As indandionas:** das quais são exemplos a clorofacinona e a difacinona (Gamelin & Harry, 2005; Imran et al., 2015; Lotfi et al., 1996; Ramesh C. Gupta, 2012).

O grupo das hidroxycumarinas por sua vez divide-se em outros 2 grupos:

- **Os de primeira geração (utilizados até aos anos 70):** normalmente de toxicidade moderada, com valores agudos de LD₅₀ (variando entre 10-50 mg/kg PV- Peso vivo) e

muitas vezes era necessária uma exposição contínua ao tóxico para que este causasse a morte do roedor (Langford et al., 2013; Ramesh C. Gupta, 2012; Shimshoni et al., 2013).

- **Os de segunda geração (utilizados a partir dos anos 70):** geralmente são mais tóxicos (100 vezes mais comparando com os de 1ª geração) e têm taxas de eliminação mais baixas (6-12 meses) (Langford et al., 2013; Yan et al., 2016) com valores de LD₅₀ entre 0,2-3,9 mg/kg PV. Uma única aplicação de 50 ppm (partes por milhão) de brodifenacume é suficiente para causar a morte à maioria dos animais. São também conhecidos pela sua grande afinidade com as células hepáticas e por tempos de semi-vida mais longos (Huang et al., 2016; Ramesh C. Gupta, 2012; Shimshoni et al., 2013). Foram introduzidos no mercado após populações de roedores, em muitos países, terem desenvolvido resistências (Elliott et al., 2014; Gamelin & Harry, 2005; J.E. Dowding, 1999; Ward B Stone et al., 1999; Webster et al., 2015).

De seguida apresenta-se uma tabela onde se compara a potência dos diferentes rodenticidas (Figura 11).

Table 1. Comparative potency of different anticoagulants illustrated by rat LD₅₀ values (mg/kg)

Type	Compound	LD ₅₀ *
First-generation (1940s–1960s)	warfarin	1.0 × 5 days
	pindone	5.0 × 5 days
	diphacinone	0.2 × 5 days
	coumatetralyl	0.3 × 5 days
Second-generation (1970s–1980s)	difenacoum	1.8 × 1 day
	bromadiolone	1.125 × 1 day
	flocoumafen	0.25 × 1 day
	brodifacoum	0.24 × 1 day

(Table adapted from World Health Organisation, 1995 and Hone and Mulligan, 1982.)

*First-generation compounds require repeat exposure to be most effective. Pindone value represents LD₆₇.

Fig 11. Comparação de potências de diferentes rodenticidas. (Adaptado de (Eason et al., 2002))

Um consumo inicial dos rodenticidas de 2ª geração normalmente providencia uma dose letal, mas a morte pode ocorrer passados 10 dias, já os de 1ª geração são rapidamente metabolizados e excretados (mais de 1 mês para a warfarina), e geralmente requer várias alimentações antes que a morte ocorra (Giraudoux et al., 2006; Langford et al., 2013).

O brodifenacume foi registado em 1979 e introduzido pela Sorex, LTD. (Londres), mas desenvolvido pela ICI (Imperial Chemicals Incorporated). Encontra-se disponível,

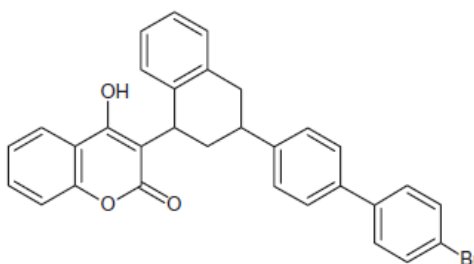
geralmente, em iscos de 0.005% para roedores comensais e 0.001% para roedores do campo. É o único rodenticida anticoagulante com capacidade de causar 100% de mortalidade na maioria das espécies de roedores após a ingestão de uma dose única. É considerado mais palatável para os roedores do que a



Fotografia 5: Exemplo de apresentação de brodifenacume

maioria dos outros rodenticidas. Não está listado em nenhuma agência como disruptor endócrino. É insolúvel na água e apenas tem um pequeno decréscimo na sua eficácia com a atividade microbiana e por isso persiste no ambiente e o tempo de semi-vida no solo varia entre 12-25 semanas (Pesticide Action Network (PAN)- Pesticide Database), acedido em http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC37399 a 2-6-2016 às 18.40; (J.E. Dowding, 1999; Ramesh C. Gupta, 2012; Rattner et al., 2014).

Brodifacoum



Este é rapidamente absorvido pelo intestino. Após ser absorvido, dependendo da dose ingerida, concentrações elevadas são depositadas no fígado. Em ratos o ratio entre a quantidade no fígado e no soro sanguíneo é aproximadamente 20:1 (Eason et al., 2002).



Fotografia 6: Exemplo de apresentação de brodifenacume

Mas apesar disso não é substancialmente metabolizado ou excretado antes de ocorrer a morte do animal. Num estudo com Corujas-das-Torres todas morreram após terem ingerido brodifenacume durante 6-10 dias. Hemorragia sub-letal, mas não morte, ocorreu em

Corujas-das-Torres que ingeriram difenacume. E uma coruja morreu após 10 dias de ingerir bromadiolona (Eason et al., 2002).

Na América do Norte foi utilizada uma espécie de mocho (pertencente à família *megascops*) para avaliar os efeitos do brodifenacume, usado para controlo de ratazanas. A mortalidade registada foi de 58% onde foi tratado 20% do terreno e de 17% quando 10% do terreno foi tratado (Cooper, 2002).

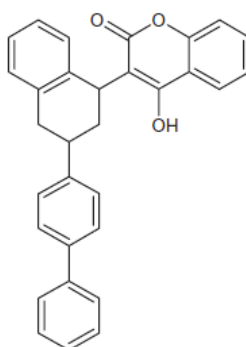
O difenacume foi sintetizado no Reino Unido em 1975 pela Sorex LTD. E encontra-se disponível, geralmente, em iscos de 0.005%. É mais tóxico que a warfarina, mas menos palatável que esta. Não está listado em nenhuma agência como disruptor endócrino (Ramesh C. Gupta, 2012); PAN Pesticides Database –

Chemicals, acedido em http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC37399 a 2-6-2016 às 18.40).



Fotografia 7: Exemplo de apresentação de difenacume

Difenacoum



Num outro estudo de Newton *et. al.* (1990), onde Corujas-das-Torres foram alimentadas com ratos envenenados durante 1, 3 ou 6 dias, as 6 corujas das torres alimentadas com difenacume sobreviveram, enquanto que 4 (em 6) corujas que ingeriram brodifenacume morreram em 6-17 dias após a



Fotografia 8: Exemplo de apresentação de difenacume

alimentação (Eason et al., 2002; Ramesh C. Gupta, 2012).

Em contraste com Newton et al 1990, quando Gray et al 1992 alimentaram corujas com ratos envenenados com brodifenacume, difenacume e flocoumafeno durante 15 dias, cada rodenticida apenas matou 1 coruja em 4 (Eason et al., 2002).

Outros estudos foram realizados em Corujas-das-Torres, onde foram estudados os efeitos dos rodenticidas (Figuras 12 e 13).

Table 7. Secondary toxicity of four anticoagulants to barn owls after 6–10 days exposure

Compound	Estimated ingested dose (mg)	Mortality
Chlorophacinone	9.2–16.1	0/2
Diphacinone	9.0–11.7	0/2
Difenacoum	8.0–12.5	0/3*
Bromadiolone	9.6–14.6	1/3
Brodifacoum	3.2–3.8	3/3

Adapted from Mendenhall and Pank (1980). Barn owls weighed between 400 and 635 g.

*Haemorrhage in survivors.

Table 8. Barn owl mortality when fed four poisoned rats

Toxicant	Mean dose (mg/kg)	Mortality
Warfarin	86.40	2/4
Bromadiolone	9.68	3/4
Brodifacoum	10.22	3/4
Flocoumafén	6.94	3/4

Table adapted from Lee (1995).

Figs 12 e 13: Efeitos de vários rodenticidas em Corujas-das-Torres (adaptado de (Eason et al.,

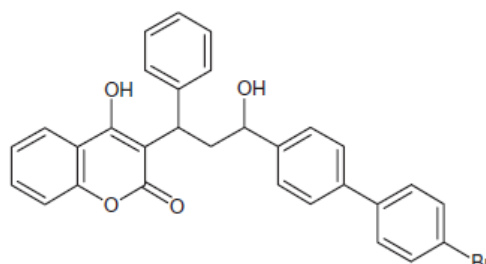
A bromadiolona foi registrada em 1980 e foi primeiramente sintetizada pela Lipha, SA. (França) durante os anos 70. É utilizada para o controle de roedores comensais e roedores de campo e a sua concentração no isco é geralmente de 0.05%. Não está listado em nenhuma agência como disruptor endócrino. O seu risco para as espécies não-alvo é



Fotografia 9: Exemplo de apresentação de bromadiolona

considerado de moderado nas aves) a elevado (nos mamíferos), mas há falta de dados laboratoriais para suportar esta teoria (PAN Pesticides Database – Chemicals, acessado em http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC37399 a 2-6-2016 às 18.40; (Giraudoux et al., 2006; Ramesh C. Gupta, 2012; Rattner et al., 2014).

Bromadiolone



Os rodenticidas têm baixa solubilidade em água e baixa volatilidade. A bromadiolona tem um baixo ou moderado potencial de bioacumulação, já o difenacume e o brodifenacume têm um potencial de bioacumulação elevado.



Fotografia 10: Exemplo de apresentação de bromadiolona

De seguida apresenta-se uma figura com a compilação de vários estudos sobre a persistência dos rodenticidas no organismo de vários animais (Figura 14).

Table 6. Persistence of second-generation anticoagulants

Compound	Species	Plasma $t_{1/2}$ (hours) (except where specified)	Liver retention* (days)	References
Difenacoum	Rat	—	$t_{1/2}$ 118	Bratt, 1987
	Rat	—	$t_{1/2}$ 120	Parmar et al., 1987
	Rabbit	83	—	Breckenridge et al., 1985
Bromadiolone	Rat	26–57	—	Kamil, 1987
	Rat	25–26	$t_{1/2}$ 170	Parmar et al., 1987
	Sheep	—	256	Nelson and Hickling, 1994
Flocoumafen	Rat	—	$t_{1/2}$ 220	Huckle et al., 1989
	Sheep	—	>128	Nelson and Hickling, 1994
	Quail	—	$t_{1/2}$ 155	Huckle and Warburton, 1989
	Barn owls	—	>100	Newton et al., 1990, 1994
	Dog	—	>300	Veenstra et al., 1991
Brodifacoum	Rat	156	>80	Bachmann and Sullivan, 1983
	Rat	—	$t_{1/2}$ 130	Parmar et al., 1987
	Rabbit	60	—	Breckenridge et al., 1985
	Dog	6 days	—	Woody et al., 1992
	Dog	0.9–4.7 days (mean 2.8)	—	Robben et al., 1998
	Possum	20–30 days	>252	Eason et al., 1996a,b
	Sheep	—	>250	Laas et al., 1985
Difethialone	Human	16–36	—	Weitzel et al., 1990
	Rat	2.3 days	$t_{1/2}$ 108	Lechevin and Poche, 1988
	Dog	2.2–3.2 days	—	Robben et al., 1998

$t_{1/2}$ for plasma or liver is the elimination half-life. It is standard convention to report the elimination $t_{1/2}$ (β -phase) rather than the α -phase.

*Liver retention is expressed as the time period for which residues are reported to persist in the liver unless the value is preceded by $t_{1/2}$. Plasma is $t_{1/2}$ unless otherwise specified.

Fig 14: Persistência (em dias) dos rodenticidas de 2ª geração no sangue e fígado de mamíferos (adaptação de (Eason et al.,

Experiências indicam que poderá ocorrer uma tolerância compensatória numa reexposição de animais que tenham recuperado de efeitos sub-letais- **Teoria de Hormesis** (Eason et al., 2002).

O tempo de semivida longo dos compostos de 2ª geração e a sua grande capacidade de persistência (bioacumulação) nos tecidos (fígado principalmente), constitui um alto risco para que existam intoxicações secundárias crónicas nos animais selvagens (W B Stone et al., 2003).

Devido a essa maior capacidade de bioacumulação, uma exposição crónica de baixos valores de anticoagulante pode originar uma grande acumulação nos tecidos por um maior período de tempo e uma eventual intoxicação não pode ser posta de parte (Shimshoni et al., 2013; W B Stone et al., 2003).

Isto faz com que incidência da exposição e envenenamento de animais selvagens (principalmente aves e mamíferos predadores) aumentasse (Albert et al., 2010; Brakes & Smith, 2005; Christensen et al., 2012; Eason et al., 2002; Elliott et al., 2014; Howald et al., 1999; Lambert et al., 2007; W B Stone et al., 2003; Thomas et al., 2011).

O brodifenacume é o rodenticida de 2ª geração mais potente e tem sido usado mundialmente para controlo de pragas. A sua eficácia ronda os 100%, 24h após os roedores consumirem o isco (P. R. Brown & Singleton, 1998).

Na Europa os de 2ª geração continuam a ser os mais utilizados e a sua eficácia na forma oral deve-se ao facto de os roedores não terem o estímulo do vômito (Rattner et al., 2014).

De todos os estudos lidos, uma concentração no fígado de 100-200 ng/g (w/w) foi sugerida como preocupante. Uma concentração de mais de 200 ng/g (w/w) foi considerada crítica para as aves de rapina (Christensen et al., 2012).

Na Europa os rodenticidas são regulados pela diretiva 98/8/EC e devido à sua persistência, bioacumulação e potencial toxicológico são reavaliados a cada 5 anos, em vez dos 10 anos normalmente estipulados (EU- European Union (União Europeia), 2010).

7. Mecanismos de ação

A nível celular, a coagulação inicia-se através da via extrínseca (Rattner et al., 2014).

O mecanismo de ação nas aves difere, um pouco, do dos mamíferos. As diferenças consistem na maior importância da via extrínseca neste processo (Figura 15). Os trombócitos

das aves parecem ter menor influência no início da coagulação, uma vez que possuem uma concentração menor de tromboplastina de que as plaquetas dos mamíferos. Estas células têm também uma função fagocitária. Também o fator XII, não foi detetado no plasma sanguíneo das aves e a atividade do fator XI parece ser significativamente menor ou estar mesmo ausente. A precalicreína e o cininogénio estão também ausentes (Pereira, 2010; Rattner et al., 2014).

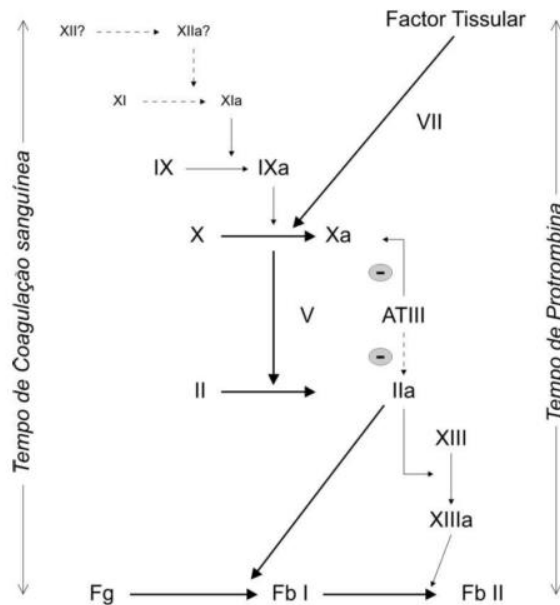


Fig 15. Cascata de coagulação de uma ave. (Adaptado de (Pereira, 2010))

Os fatores de coagulação II (protrombina), VII (pró-convertina), IX (fator de Christmas) e X (fator de Stuart-Prower) necessitam, para serem ativados, de se ligarem ao cálcio. A capacidade para realizar esta ligação requer a conversão dos resíduos glutâmicos destes fatores de coagulação, a resíduos γ - carboxiglutâmicos, através de uma reação de carboxilação. Durante esta reação, a vitamina K1 hidroquinona é convertida no seu metabolito biologicamente inativo, a vitamina K1 2,3- epóxido. Esta é reduzida em vitamina K1, através da enzima epóxido redutase, que se encontra no retículo endoplasmático rugoso dos hepatócitos (Gamelin & Harry, 2005; Ramesh C. Gupta, 2012). A vitamina K, assim regenerada, pode voltar a ser de seguida epoxidada num *turn over* permanente que assegura a síntese dos fatores de coagulação. Este ciclo de reações conserva um stock de vitamina K suficiente para manter a taxa de produção destes fatores compatível com uma coagulação normal (Gamelin & Harry, 2005).

O principal mecanismo de ação dos rodenticidas é inibir as redutases, principalmente a epóxido redutase, prevenindo a regeneração da vitamina K (que intervém na cascata de

coagulação), funcionando como antagonistas da mesma, levando a que os fatores II, VII, IX e X da cascata de coagulação não sejam produzidos pois são dependentes desta vitamina (Figura 16). Segue-se diminuição da capacidade de coagulação que aparece em 24 horas e piora em 48-72 horas, impedindo a formação de trombos o que leva a hemorragias e em altas doses à morte (Elliott et al., 2014; Gamelin & Harry, 2005; Huang et al., 2016; Lambert et al., 2007; Langford et al., 2013; Lotfi et al., 1996; Shimshoni et al., 2013; W B Stone et al., 2003; Ward B Stone et al., 1999; Webster et al., 2015; Yan et al., 2016).

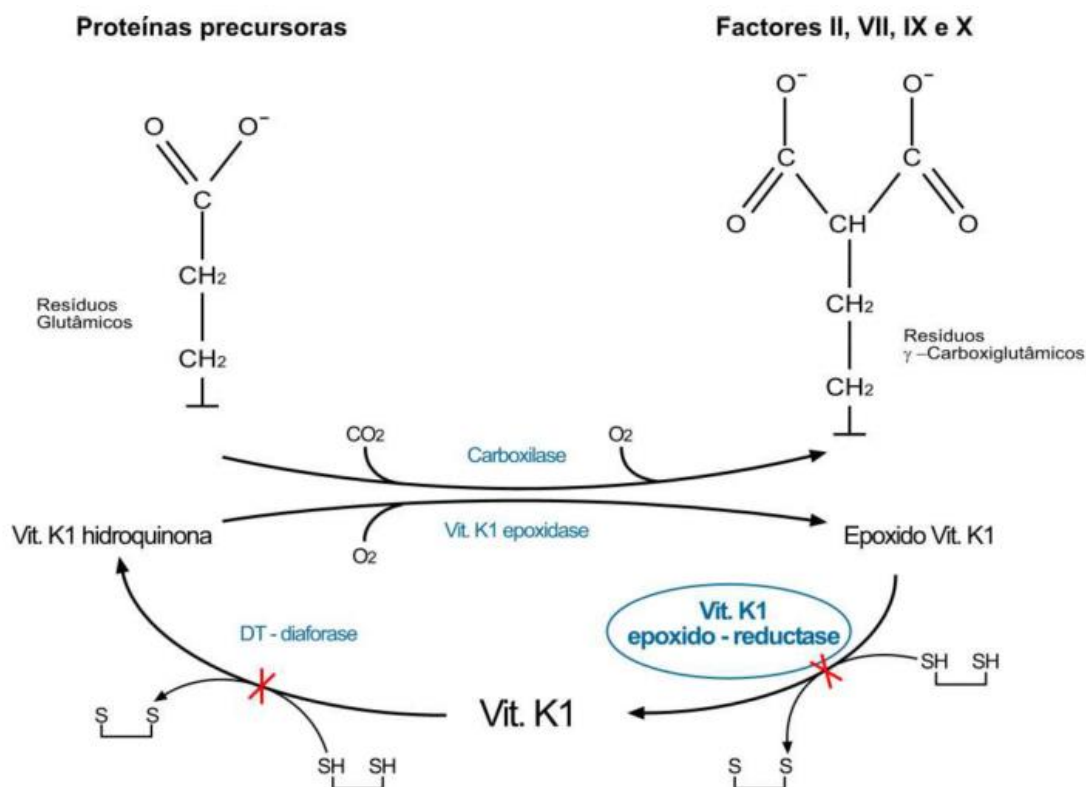


Fig 16: Ciclo da Vitamina K e pontos de ação dos rodenticidas (Adaptado de (Ramesh C. Gupta, 2012))

Uma vez que que esses fatores de coagulação não estão a ser produzidos, os animais estarão mais vulneráveis a hemorragias fatais que podem ter origem em traumas e outros fatores (W B Stone et al., 2003). Além disso a permeabilidade dos capilares aumenta, o que mais uma vez predispõe os animais a hemorragias internas. Isto pode acontecer alguns dias após a ingestão dos rodenticidas, ou após várias ingestões. Mas alguns iscos podem causar a morte após apenas 1 ingestão (Solymar, 2001).

8. Farmacocinética

A maior potência e maior tempo de semi-vida destes compostos comparada com os anticoagulantes de 1ª geração é, segundo (Ramesh C. Gupta, 2012), atribuída a:

1. Maior afinidade para a vitamina K1 2,3 epóxido redutase
2. Capacidade de inibir a cascata de coagulação em mais que 1 ponto
3. Maior acumulação hepática
4. Tempos de semi-vida mais longos devido à sua solubilidade lipídica e à circulação entero-hepática

Após observação, encontram-se concentrações elevadas destes compostos, livres no sangue, variando o tempo de semi-vida, de acordo com vários autores, entre 0,7 e 30 dias para o brodifenacume e 1 e 2,4 para a bromadiolona. Esta variação, especialmente marcada no caso do brodifenacume, pode estar relacionada com as diferentes doses de exposição e espécie animal estudada (Pereira, 2010).

Num estudo realizado em ratos, a semi-vida plasmática foi de 25,7 a 58,7 horas após a administração de doses únicas orais de 0,8 e 3 mg/kg respectivamente (Gamelin & Harry, 2005). Num outro estudo realizado em 4 cães, o tempo de semi-vida sérica era de 6 ± 4 dias após a administração de brodifenacume (Gamelin & Harry, 2005).

Num estudo realizado com humanos, o tempo de semi-vida do difenacume era de 11,7 dias (Gamelin & Harry, 2005).

Após passagem pelo sangue estes compostos anticoagulantes depositam-se em vários órgãos e tecidos do organismo, sendo o local de maior concentração o fígado.

Bratt e Hudson, observaram após administração de brodifenacume radioativo (0,25 mg/kg) em ratos, que passados 10 dias cerca de 11-14% do composto tinha sido eliminado nas fezes, e que os 74,6% que ainda se encontravam no organismo estavam distribuídos em 22,8% no fígado, 2,3% no pâncreas, 0,8% nos rins, 0,2% no baço e 0,1% no coração. (Pereira, 2010)

Apesar desta variação, uma conclusão generalizada é que o tempo de persistência no organismo dos compostos de 1ª geração, quando comparados com os compostos com os de 2ª geração, é significativamente maior nos últimos (*World Health Organization* 1995).

Apesar de alguns estudos compararem diferenças interespecíficas da tolerância dos roedores aos rodenticidas (Thomas et al., 2011), pouco se sabe sobre o básico para variação individual, se é genético ou outro fator (Huang et al., 2016). De uma perspectiva

farmacocinética, a variação pode ser atribuída a vários fatores, incluindo diferenças na eficiência enzimática da VKOR (vitamina K epóxido redutase), na capacidade de ligação dos compostos à albumina e na capacidade metabólica mediada pela CYP (citocromo P450) (Huang et al., 2016). O gene CYP2C45 (gene característico das aves) partilha um considerável número de proteínas e sequências idênticas de DNA com os outros genes da subfamília CYP2C de animais que não as aves, e tem sido designado homólogo ao gene humano CYP2C9, que está envolvido na desintoxicação da warfarina (Huang et al., 2016). Se este gene tem um papel importante no metabolismo dos rodenticidas em aves é atualmente desconhecido.

9. Metabolismo

Os rodenticidas anticoagulantes são lipossolúveis e facilmente absorvidos por todas as vias. A via oral é a via clássica da intoxicação acidental ou voluntária no Homem. A absorção digestiva é rápida e completa, a exposição percutânea é igualmente responsável por intoxicações, por vezes mortais. A intoxicação por via respiratória é possível e pode ser avaliada em meio profissional ou num contexto de toxicodependência (por exemplo, inalação de uma dose de marijuana misturada com brodifenacume) (Gamelin & Harry, 2005).

Os estudos em animais têm demonstrado que os rodenticidas sofrem uma forte retenção hepática. Os hidroxycumarínicos de 2^o geração são muito pouco metabolizados e são, em grande parte, eliminados pelas fezes na forma ativa. A warfarina induz uma hidroxilação hepática catalisada pelos citocromos P450 2C9 e 3 A 4 (Gamelin & Harry, 2005). As indandionas são igualmente hidrolisadas e a sua eliminação é igualmente fecal. A cinética geral da eliminação dos rodenticidas é bifásica com uma decadência inicial rápida de alguns dias, seguida de uma fase terminal lenta podendo durar algumas semanas. A semi-vida final é muito variável conforme o produto, a dose e o próprio animal. Nos ratos ela é de 130,170 e 120, respetivamente, para o brodifenacume, a bromadiolona e o difenacume (Gamelin & Harry, 2005).

Parmer *et al* (Pereira, 2010) observaram que a cinética do brodifenacume e bromadiolona no fígado é bifásica, com uma fase inicial rápida de distribuição e uma fase final lenta de eliminação, contrariamente à warfarina (eliminação monofásica) e com duração muito mais longa que esta. Os tempos de semi-vida no organismo destes compostos, apesar de longos, variam de acordo com o estudo analisado.

Este composto é lentamente eliminado via um modelo de 2 compartimentos, com um tempo de semi-vida que varia entre os 20-62 dias nos humanos (Yan et al., 2016). Após um

longo tempo de exposição ao brodifenacume, este leva mais de 8 meses para ser eliminado do corpo, apesar de se usar um antídoto (Yan et al., 2016).

Os dados sobre a disposição do brodifenacume no fígado sugerem que a seguir à acumulação inicial no fígado, este composto redistribui-se para atingir o estado estável de distribuição hepática entre os dias 2-7, e não é vista nenhuma redistribuição a partir da fração microssomal (Yan et al., 2016).

Deguchi *et. al.* estudaram o efeito na warfarina nos metabolitos do plasma. Duas novas moléculas foram descobertas pertencendo à mesma família e também chegaram à conclusão que a família etanolamina possivelmente estimula a coagulação ao aumentar a trombina no plasma. O efeito de redução da etanolamina poderá ser pequeno comparado com o efeito da warfarina de inibir a vitamina K (Yan et al., 2016).

10. Sintomatologia, diagnóstico e tratamento

A sintomatologia deste tipo de envenenamentos é bastante inespecífica e está relacionada com a disfunção de diversos órgãos, secundária à hemorragia e hipovolémia.

Os sinais clínicos podem ser morte súbita devido a hemorragia massiva, dispneia associada a hipovolémia ou hemotórax, hematomas e outros menos comuns como fraqueza, letargia, tosse, vômitos, palidez, anemia, nódos negros, tremores, dor, distensão abdominal e melena (Gallocchio et al., 2014; Pereira, 2010).

Em animais selvagens, um aumento do tempo de protrombina em mais de 25% ou dois desvios padrão acima dos valores base é sugestivo de exposição aos rodenticidas, e o melhor método para confirmação é a deteção analítica dos tóxicos no sangue ou tecidos (Rattner et al., 2014).

Os animais podem apresentar perda de sangue em grandes quantidades e morrer devido a hemorragia letal, que pode ser espontânea, mas que são muitas vezes iniciadas e exacerbadas por trauma, que é comum em animais selvagens, mas a letalidade dos rodenticidas pode apenas resultar em pequenas hemorragias resultando em isquémia localizada, hipóxia e morte celular em órgãos vitais (Rattner et al., 2014).

Além das hemorragias pode haver outras complicações resultantes da exposição aos tóxicos e relacionadas com o ciclo da vitamina K. Sabe-se que esta vitamina é necessária na carboxilação do ácido glutâmico, componente das proteínas ósseas como é o caso da osteocalcina, produzida pelos osteoblastos e da proteína matriz Gla (MGP- *Matrix gla protein*), produzida pelos condrócitos. Estas proteínas carboxiladas possuem uma maior afinidade para

o cálcio e são importantes na incorporação do mesmo no osso. Através da utilização de compostos anticoagulantes esta reação não se processa, dando origem a proteínas não carboxiladas e, portanto, não funcionais (Pereira, 2010). Existem diversos estudos sobre a utilização de anticoagulantes, como a varfarina, no tratamento a longo-prazo de pacientes humanos com problemas cardíacos. São consensuais os efeitos destes compostos no desenvolvimento ósseo do embrião, onde se observam deformações ósseas, como por exemplo hipoplasia nasal, calcificação anormal e encurtamento dos ossos longos (Pereira, 2010). Também em crianças que mantinham um tratamento com warfarina, se concluiu que havia uma redução significativa da densidade óssea (Pereira, 2010; Rattner et al., 2014). Já no que se refere a indivíduos adultos os resultados não são concordantes (Pereira, 2010). Contudo, alguns autores observaram a associação entre a utilização destes compostos e uma redução na densidade óssea, aumento da incidência de fraturas e osteoporose (Pereira, 2010). Os casos descritos em humanos são de difícil análise e aplicação neste estudo por duas razões fundamentais, os pacientes estudados apresentam características muito distintas (faixa etária, doses administradas, etc.) e estes foram submetidos a doses muito baixas de anticoagulante por períodos de tempo prolongados. Existem, no entanto, outros estudos em ratos que tentam relacionar alterações da matéria óssea com a presença de rodenticidas anticoagulantes, nomeadamente a varfarina (Pereira, 2010), onde foram observadas alterações ósseas significativas. Relativamente ao caso concreto das aves, existe apenas um estudo relativo a esta problemática. Knopper et al (2007), pretenderam demonstrar, em aves de rapina, relação entre a densidade óssea, a força de rotura e a exposição a doses sub-letais de rodenticidas (brodifenacume). Neste estudo foram analisados úmero e fémur de diversas aves intoxicadas por este composto. Foi concluído que não existia relação entre a intoxicação por rodenticidas e uma diminuição da densidade óssea, resistência a fratura e consequentemente aumento do risco de fraturas (Pereira, 2010; Rattner et al., 2014). O resultado negativo apresentado pelos autores foi descrito pelos mesmos da seguinte forma: é possível que uma depleção do cálcio nos ossos possa ser reversível assim que os níveis de vitamina K voltem ao normal. Para além disso não existe um procedimento standard para a medição da resistência e densidade óssea em aves, e como tal outros métodos de medição podem ser mais sensíveis aos efeitos dos anticoagulantes nos ossos das aves de rapina.

Letargia e posturas anormais são frequentemente observadas em estudos toxicológicos. Perda de peso e de condição corporal são mencionados em muitos estudos.

Papworth, após descrever o mecanismo de envenenamento por anticoagulantes, especulou, que pequenas lesões (arranhões, hematomas ou pequenas lesões internas)

podem conduzir a hemorragias extensas e causar a morte se a coagulação não se processa adequadamente sobre a superfície lesionada (Pereira, 2010).

Conseguir chegar a um diagnóstico e tratamento de uma intoxicação com rodenticidas irá depender da capacidade de detecção do médico veterinário e dos métodos complementares a que o mesmo tenha acesso. A sua detecção é importante para confirmar a sua presença ou não em alguns casos de coagulopatias fatais.

O diagnóstico é baseado na história de possível exposição a rodenticidas, exame físico, avaliação laboratorial de alterações na coagulação e resposta ao tratamento específico. A determinação do tempo de protrombina (TP) para avaliação do fator VII, é uma das ferramentas mais importantes para o diagnóstico inicial, uma vez que este é, dos fatores de coagulação, aquele que tem um tempo de semivida mais curto (Intervalo de referência= 17-29 segundos). A variabilidade deste teste aumenta significativamente com a exposição ao brodifenacume, como também com as diferenças inter-individuais e inter-espécie no metabolismo do citocromo hepático P450 ou na sensibilidade do VKOR (Eason et al., 2002; Rattner et al., 2012; Webster et al., 2015). Esta variação pode ser útil como uma linha adicional de evidência de exposição aos anticoagulantes. Este teste poderá ser utilizado como possível biomarcador para avaliar o risco para populações específicas de aves (Webster et al., 2015). A análise do tempo de ativação parcial da tromboplastina (APTT- Activated Partial Thromboplastin Time), é normalmente utilizado em conjunto com a determinação de TP para avaliação de todos os fatores de coagulação, com exceção do fator VII. Como alternativa ao APTT, pode ser realizado o teste de tempo de coagulação (ACT- Activated Clotting Time), este tem como benefício poder ser utilizado fora do laboratório (Pereira, 2010; Webster et al., 2015).

Pacientes que apresentem estes parâmetros aumentados e tempos de trombina, fibrinogénio e produtos de degradação de fibrina circulantes normais, são considerados a envenenamento por rodenticidas anticoagulantes (Pereira, 2010).

Contudo estes não permitem a identificação do tóxico (importante para se chegar a um tratamento adequado). Esta identificação só é possível através de técnicas analíticas.

Após diagnóstico (quando possível) de uma intoxicação, esta pode ser resolvida em dias ou semanas, mas a atividade da VKOR pode estar inibida por várias semanas ou meses, reduzindo a capacidade de sintetizar a vitamina K, e por isso os animais vão estar mais sensíveis a próximas intoxicações (Rattner et al., 2014).

(Webster et al., 2015), estudaram 63 Corujas-das-Torres, testando os tempos de protrombina dos animais. Eram 53 crias rurais, 4 crias urbanas (todas as crias com idades compreendidas entre 40-55 dias), 4 adultos urbanos (2 mantidas em cativeiro) e 1 adulto de um centro de recuperação. Os autores descobriram que todos os animais apresentavam

valores dentro do intervalo de referência, exceto a coruja do centro de reabilitação que tinha um resultado de PT de 103,6 segundos (elevado), e que poderia indicar exposição aos rodenticidas.

O tratamento específico para estes casos consiste na administração de vitamina K1 (com o objetivo de estar imediatamente disponível para a síntese de novos fatores de coagulação), que em aves deve ser através de administração oral ou intramuscular. A sua administração será gradualmente reduzida, se durante o processo não houver alteração dos valores de protrombina. Se após 2 dias do fim do tratamento o valor de TP se encontrar normal, é parada de forma definitiva a administração de vitamina K1 (Gamelin & Harry, 2005).

Ela é administrada sempre que o tempo de protrombina sofra uma queda de 60% ou que o INR (International Normalized Ratio) seja superior a 1,5. Se o tempo de protrombina for inferior a 20% podem-se realizar transfusões sanguíneas (apenas dos fatores vitamina K-dependentes) (Gamelin & Harry, 2005).

Apesar deste tratamento específico há, por vezes, necessidade de realizar tratamento de suporte de vida e/ou mitigação dos efeitos. Esse tratamento consiste em administração de eméticos, absorventes ou catárticos (como por exemplo carvão ativado), concentrado de protrombina, fator VII recombinante ativado e em caso de confirmação de hemorragias pode ser administrado plasma fresco, congelado ou sangue total (Gamelin & Harry, 2005).

11. Efeitos sub-letais

Uma questão importante nesta área, relaciona-se com a existência de possíveis efeitos sub-letais em aves que ingiram doses não letais destes xenobióticos. (Pereira, 2010)

Os estudos realizados em diversas espécies de rapinas noturnas, focaram-se fortemente em analisar níveis de contaminantes e determinação *post-mortem* da causa da morte em indivíduos encontrados mortos. O envenenamento secundário destas aves é considerado uma importante rota de exposição e pode contribuir significativamente para a mortalidade das rapinas noturnas, taxas de reprodução baixas e outros efeitos sub-letais (Sheffield, 1996).

Uns dos primeiros autores a especularem sobre o tema dos efeitos sub-letais foram Hedgal e Colvin 1988 e Lavoie que referem que o stress pode ser um fator crucial na sobrevivência de animais expostos a anticoagulantes. Isto é, que os animais que estejam expostos a anticoagulantes em situações de alteração das condições ambientais (alterações climáticas, disponibilidade de presa, defesa de territórios, escolha de parceiro para acasalamento), podem ter a sua sobrevivência condicionada (Pereira, 2010).

Newton, também suspeitou que níveis sub-letais de rodenticidas podem predispor os animais a mortes por outras causas, como colisões, debilidade extrema, ou podem reduzir a probabilidade de recuperações e acidentes (Pereira, 2010).

Foi descoberto que as aves de rapina noturnas são altamente suscetíveis a envenenamento secundário por rodenticidas e inseticidas através do consumo de presas contaminadas. Os efeitos encontrados nesses estudos foram tanto letais como sub-letais. Os efeitos letais foram vistos em aves expostas a inseticidas, rodenticidas e tiro (chumbo) (Sheffield, 1996). Os efeitos sub-letais vistos incluíam sangue regurgitado e hemorragias internas e diminuição dos níveis de protrombina plasmática para os rodenticidas (Sheffield, 1996).

(W B Stone et al., 2003), referem que hemorragias sub-letais podem interferir na locomoção, diminuindo a sua capacidade de defesa contra traumas acidentais e ainda diminuição da atividade de predação, podendo este último efeito resultar numa nutrição inadequada que pode predispor os animais a doenças parasitárias ou infecciosas, hipotermia, entre outros. Refere ainda, citando um estudo de Kumar e Saxena, que devido ao facto de o fígado ser o órgão onde a acumulação destes compostos se efetua em maior quantidade, pode conduzir a uma lesão tóxica irreversível do mesmo.

Tem sido especulado que a exposição aos rodenticidas pode alterar o comportamento de um indivíduo ao causar letargia ou reduzir a capacidade sensorial levando a acidentes e morte em adição à morte causada por hemorragias após o consumo da dose letal (Katherine H. Langford et al 2003).

12. Resistências aos rodenticidas

O uso mundial e em grande escala de rodenticidas de primeira geração levou à instalação de resistências por parte dos roedores.

A resistência aos rodenticidas foi primariamente descoberta em 1958 no Reino Unido (Buckle, 2013).

É obrigatório, segundo a lei da EU, declarar todas as resistências conhecidas para que seja possível realizar a reavaliação aos rodenticidas, implementando a Diretiva dos Produtos Biocidas. Esta diretiva originou a remoção do mercado da maioria dos produtos alternativos aos anticoagulantes (Figura 17) (Buckle, 2013).

Table 3. The rodenticide active substances (product type 14) that have completed their review under the terms of the Biocidal Products Directive (powdered corn cob and hydrogen cyanide remain in review)

Active substance	Date of BPD inclusion directive	Date of Annex I inclusion	Date of expiry
Difethialone	29 November 2007	1 November 2009	31 October 2014
Carbon dioxide	24 July 2008	1 November 2009	31 October 2019
Difenacoum	29 July 2008	1 April 2010	31 March 2015
Bromadiolone	31 July 2009	1 July 2011	30 June 2016
Alphachloralose	31 July 2009	1 July 2011	31 June 2021
Aluminium phosphide	31 July 2009	1 September 2011	31 August 2021
Coumatetralyl	29 July 2009	1 July 2011	30 June 2016
Chlorophacinone	4 August 2009	1 July 2011	30 June 2016
Flocoumafen	27 November 2009	1 October 2011	30 September 2016
Warfarin sodium	9 February 2010	1 February 2012	31 January 2017
Warfarin	9 February 2010	1 February 2012	31 January 2017
Brodifacoum	9 February 2010	1 February 2012	31 January 2017
Powdered corn cob	To be done	To be done	–
Hydrogen cyanide	To be done	To be done	–

Fig. 17: Substâncias ativas que foram revistas sob a Diretiva dos Produtos Biocidas (Adaptado de (Buckle, 2013))

A confiança nestas substâncias, tanto agora como no futuro, faz com que haja a necessidade do desenvolvimento, disseminação e implementação de um plano de gestão de estratégias em relação às resistências de extrema importância (Buckle, 2013).

Gestão de resistências (Buckle, 2013):

- **Dinamarca:** os compostos mais potentes só são permitidos quando há resistências aos compostos menos potentes.
- **Alemanha, Bélgica e França:** uso irrestrito de todos os rodenticidas.
- **Reino Unido:** forte dependência de compostos que já apresentam resistências como o difenacume e a bromadiolona e praticamente nenhum uso de potentes disruptores de resistência como o brodifenacume e o flocoumafen.

13. Volume de vendas de rodenticidas

A colocação no mercado e comercialização de produtos fitofarmacêuticos no espaço europeu está fortemente regulamentada, no âmbito da publicação da Diretiva 91/414/CEE (DGAV, 2013).

O uso de produtos fitofarmacêuticos pode promover benefícios significativos para a sociedade através do aumento da disponibilidade de géneros alimentícios de boa qualidade, a preços razoáveis. No entanto, os produtos fitofarmacêuticos podem, pela sua natureza, ser prejudiciais aos organismos vivos, havendo riscos associados à sua utilização. É importante que esses riscos sejam avaliados com precisão e sejam definidas as medidas adequadas para os minimizar (DGAV, 2013).

A par da Diretiva nº 2009/128/CE, foi publicado o Regulamento (CE) nº 1107/2009 relativo à colocação no mercado de produtos fitofarmacêuticos, que veio reforçar o nível de

exigência no que respeita à proteção da saúde humana e animal e do ambiente e melhorar o funcionamento do mercado interno através da harmonização das normas de colocação no mercado dos produtos fitofarmacêuticos (DGAV, 2013).

A população agrícola familiar, representava, em 2009, cerca de 7% da população residente em Portugal (DGAV, 2013).

Fazendo um perfil tipo do produtor agrícola português, este caracteriza-se por ser homem, ter 63 anos, tendo apenas completado o 1º ciclo do ensino básico, ter formação agrícola exclusivamente prática e trabalhar nas atividades agrícolas da exploração cerca de 22 horas por semana (DGAV, 2013).

A 31 de dezembro de 2014, estavam tituladas com autorização de venda em Portugal 1054 produtos fitofarmacêuticos com base em 367 substâncias ativas (DGAV, 2016).

Em 2014 verificou-se um acréscimo nas vendas de produtos fitofarmacêuticos, houve um volume de vendas superiores em cerca de 2772 toneladas, o que implicou uma subida de cerca de 27% em relação ao ano anterior (DGAV, 2016).

O valor de vendas em 2014 relacionado com o de 2009 representava uma diminuição de cerca de 6% (DGAV, 2016).

Em relação ao volume de vendas de reguladores de crescimento, nematocidas/esterilizantes/fumigantes do solo, moluscicidas, rodenticidas e óleos vegetais, na sua globalidade, e quando relacionados com 2013, apresentou um acréscimo de cerca de 934 toneladas implicando uma subida de cerca de 165% (Figura 18) (DGAV, 2016).

Quadro 2 - Percentagem de vendas de produtos fitofarmacêuticos, por função, relacionadas com as vendas totais, nos últimos 6 anos.

	2009	2010	2011	2012	2013	2014
	%	%	%	%	%	%
Fungicidas	67,2112	68,6858	71,1906	68,3417	71,2573	63,9423
Enxofre	47,8575	48,7042	47,8281	48,7042	48,4260	44,5171
Herbicidas	12,1526	14,8042	14,2494	14,1919	15,8026	18,9423
Inseticidas e Acaricidas ♦	2,7414	2,6889	2,3882	6,5110*	7,3499*	5,7475*
Outros**	13,46704	9,89043	8,37193	10,9554	5,5902	11,6245

Observação:

♦ A não inclusão de óleos minerais no cálculo da % dos inseticidas de 2009 a 2011 é propositada e destina-se a proteger a confidencialidade dos dados.

* Inclui óleos minerais.

** Inclui esterilizadores do solo (nematodocidas/fumigantes), rodenticidas, reguladores de crescimento, moluscicidas e óleos vegetais.

Fig 18: Percentagem de vendas de produtos fitofarmacêuticos, de 2009-2014 (adaptado de (DGAV,

No período de 2009-2013 verificou-se um declínio acentuado de vendas de cerca de 1317 toneladas, aproximadamente uma diminuição de cerca de 70%, tendo em 2014 se verificado uma subida acentuada (Figura 19) (DGAV, 2016).



Fig 19: Evolução da venda de produtos fitofarmacêuticos ao longo de 15 anos (adaptado de (DGAV, 2016))

A venda de produtos fitofarmacêuticos de 2000-2013 teve dois picos, um em 2002-2003 e outro em 2008, com volumes de vendas acima das 17000 toneladas. Este aumento derivou do aumento do volume de vendas de fungicidas que por sua vez reflete o aumento de vendas do enxofre. De 2008-2013, a tendência tem sido de decréscimo no volume de vendas, com duas quedas acentuadas de 2008-2009 e de 2011-2013 (Figura 20) (DGAV, 2016).

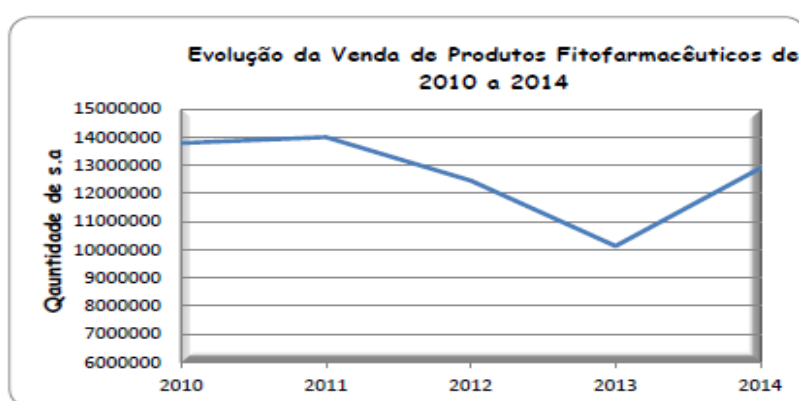


Fig 20: Evolução da venda de produtos fitofarmacêuticos de 2010-2014 (adaptado de (DGAV, 2016))

No seu conjunto, esterilizadores de solo, rodenticidas, reguladores de crescimento, moluscicidas e óleos vegetais apresentam, uma curva sem tendência definida com um

decréscimo de 2010-2011 e um acréscimo em 2012 de cerca de 16%. Em 2013 registou-se uma quebra de cerca de 799 toneladas, aproximadamente 58,5% (DGAV, 2016).

O recurso a produtos fitofarmacêuticos como fator de produção assume uma importância significativa, sendo-lhes apontada uma quota-parte importante do rendimento obtido na produção fitossanitária, dependente, por sua vez, no número, tipo e severidade de efeitos causados pelas pragas (DGAV, 2016).

14. Regulamentação

Seguidamente, identifica-se, a legislação nacional e comunitária cuja aplicação no território nacional tem repercussões diretas ou indiretas na comercialização e utilização de produtos fitofarmacêuticos (DGAV, 2013) (Anexo 3).

Colocação no mercado de produtos fitofarmacêuticos

- **Decreto-Lei nº 94/98 de 15 de abril**, que enuncia as normas técnicas de execução do Decreto-lei nº 284/94 de 11 de novembro, que transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva 91/414/CEE, do Conselho, de 25 de julho, relativa à colocação no mercado de produtos fitofarmacêuticos, e estabelece o regime de homologação, autorização, lançamento no mercado, utilização, controlo e fiscalização de produtos fitofarmacêuticos.
- **Regulamento (CE) nº 1107/2009** do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro, relativo à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado e que revoga as Diretivas 79/117/CEE e 91/414/CEE do Conselho.

Comercialização, distribuição e utilização de produtos fitofarmacêuticos

- **Decreto-Lei nº 173/2005, de 21 de outubro**, que regula as atividades de distribuição, venda, prestação de serviços de aplicação de produtos fitofarmacêuticos e a sua aplicação pelos utilizadores finais.
- **Lei nº 26/2013**, que regula as atividades de distribuição, venda e aplicação de produtos fitofarmacêuticos para uso profissional e de adjuvantes de produtos fitofarmacêuticos e define os procedimentos de monitorização à utilização dos produtos fitofarmacêuticos, transpondo a Diretiva n.º 2009/128/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro, que estabelece um quadro de ação a nível comunitário para uma utilização sustentável dos pesticidas e revogando a Lei n.º 10/93, de 6 de abril, e o Decreto-Lei n.º 173/2005, de 21 de outubro.

- **Decreto-Lei nº 101/2009, de 11 de maio**, que regula o uso não profissional de produtos fitofarmacêuticos em ambiente doméstico, estabelecendo condições para a sua autorização, venda e aplicação.
- **Decreto-Lei nº 86/2010, de 15 de julho**, que estabelece o regime de inspeção obrigatória dos equipamentos de aplicação de produtos fitofarmacêuticos autorizados para uso profissional.
- **Decreto-Lei nº 187/2006 de 19 de setembro**, que estabelece as condições e procedimentos de segurança no âmbito dos sistemas de gestão de resíduos de embalagens e de resíduos de excedentes de produtos fitofarmacêuticos.
- **Portaria nº 758/2007 de 3 de julho**, que remete para a empresa detentora da autorização de venda ou de autorização de importação paralela do produto fitofarmacêutico, a responsabilidade pela recolha e gestão dos resíduos de embalagem de produtos fitofarmacêuticos com capacidade ou peso iguais ou superiores a 250 L ou 250 kg.
- **Decreto-Lei nº 147/2008, de 29 de julho**, alterado pelo Decreto-Lei nº 245/2009, de 22 de setembro, pelo Decreto-Lei nº 29-A/2011, de 1 de março e pelo Decreto-Lei nº 60/2012, de 14 de março, que estabelece o regime jurídico da responsabilidade por danos ambientais e transpõe para a ordem jurídica nacional a Diretiva nº 2004/35/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de Abril de 2004, que aprovou, com base no princípio do poluidor-pagador, o regime relativo à responsabilidade ambiental aplicável à prevenção e reparação dos danos ambientais, com a alteração que lhe foi introduzida pela Diretiva nº 2006/21/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de março de 2006, relativa à gestão de resíduos da indústria extrativa e pela Diretiva 2009/31/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Abril, relativa ao armazenamento geológico de dióxido de carbono.

Estabelecimento de Limites Máximos de Resíduos (LMR) e seu controlo

- **Regulamento (CE) nº 178/2002, de 28 de janeiro**, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece os procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.
- **Regulamento (CE) nº 882/2004, de 29 de abril**, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e bem-estar dos animais.

- **Regulamento (CE) n.º 396/2005, de 23 de fevereiro**, relativo aos limites máximos de resíduos de produtos fitofarmacêuticos no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal, e que altera a Diretiva 91/414/CEE do Conselho.
- **Regulamento (CE) n.º 669/2009, de 24 de julho**, que dá execução ao Regulamento (CE) n.º 882/2004, no que respeita aos controlos oficiais reforçados na importação de certos alimentos para animais e géneros alimentícios de origem não animal e que altera a Decisão 2006/504/CE
- **Regulamento (UE) n.º 1277/2011, de 08 de dezembro**, que substitui o anexo I do Regulamento 669/2009, que dá execução ao Regulamento (CE) n.º 882/2004, no que respeita aos controlos oficiais reforçados na importação de certos alimentos para animais e géneros alimentícios de origem não animal.
- **Decreto-Lei n.º 144/2003, de 02 de julho (revogado, exceto artigos 10.º e 11.º)**, que estabelece o regime dos limites máximos de resíduos de produtos fitofarmacêuticos permitidos nos produtos agrícolas de origem vegetal destinados à alimentação humana ou, ainda que ocasionalmente, à alimentação animal, a seguir designados por produtos agrícolas, bem como nos mesmos produtos agrícolas secos ou transformados, ou ainda depois de incorporados em alimentos compostos, na medida em que possam conter resíduos de produtos fitofarmacêuticos.
- **Decreto-Lei n.º 39/2009, de 10 de fevereiro**, que assegura a execução e garante o cumprimento, na ordem jurídica interna, das obrigações decorrentes do Regulamento (CE) n.º 396/2005.
- **Decreto-Lei n.º 53/2008, de 25 de março**, que transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva n.º 2006/125/CE, da Comissão, de 05 de dezembro, e estabelece o regime jurídico aplicável aos géneros alimentícios para utilização nutricional especial que satisfaçam os requisitos específicos relativos aos lactentes e crianças de pouca idade saudáveis e destinados a lactentes em fase de desmame e a crianças de pouca idade em suplemento das suas dietas e ou adaptação progressiva à alimentação normal.
- **Decreto-Lei n.º 217/2008, de 11 de novembro**, que transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva n.º 2006/141/CE, da Comissão, de 22 de dezembro, na parte relativa às fórmulas para latentes e fórmulas de transição, estabelece o respetivo regime jurídico e revoga os Decretos-Leis n.º 220/99, de 16 de junho, 286/2000, de 10 de novembro, e 138/2004, de 5 de junho.

Conservação da biodiversidade

- **Decreto-Lei nº 140/99, republicado pelo Decreto-Lei nº 49/2005**, que transpõe para o direito interno a Diretiva nº 79/409/CEE, relativa à conservação das aves selvagens e a Diretiva nº 92/43/CEE, relativa à preservação dos habitats naturais e da fauna e flora selvagens.
- **Decreto-Lei nº 142/2008**, que estabelece o regime jurídico da conservação da natureza e da biodiversidade.

15. Métodos analíticos

Das várias técnicas de deteção que existem, o fígado é o órgão mais usado porque é o mais conhecido por acumular rodenticidas durante dias ou semanas e é facilmente usado para confirmação de veneno em animais mortos (P. J. Berny et al., 1995).

Métodos analíticos para deteção de rodenticidas

Cromatografia de camada fina (CCF)

As primeiras referências a esta técnica datam dos anos 50. É utilizada num extenso número de campos, nomeadamente na deteção de pesticidas (Pereira, 2010).

Este processo envolve um adsorvente (fase estacionária), um solvente ou mistura de solventes (fase móvel) e os compostos presentes na amostra. Esta técnica baseia-se numa migração diferencial dos diferentes compostos presentes na amostra, à medida que a fase móvel ascende sobre a fase estacionária (Pereira, 2010).

→ Deteção

O método mais comum de deteção das manchas originárias da separação é a aplicação de luz ultravioleta (UV) sobre a placa. Na maioria das vezes a placa utilizada contém um material fluorescente, cuja emissão é inibida pela maioria dos solutos. Assim após a aplicação de luz UV as manchas dos solutos aparecem mais escuras, enquanto a placa aparece brilhante (Pereira, 2010).

Para aumentar a especificidade, outros métodos de deteção podem ser utilizados, nomeadamente através da aplicação de substâncias químicas reativas, como o ácido sulfúrico, a fluoresceína, etc. (Pereira, 2010).

→ **Avaliação do cromatograma**

Um dos fatores de avaliação da migração denomina-se fator de retenção (RF) determinado pela seguinte equação (Pereira, 2010):

$$\text{RF} = \frac{\text{Distância de migração do composto desde a origem}}{\text{Distância do solvente desde a origem}}$$

Os valores variam entre 0 e 1. Estes devem ser orientativos, uma vez que a sua reprodução nem sempre é exata. Este valor varia com (Pereira, 2010):

- A saturação da câmara
- O tipo e concentração do solvente
- A temperatura
- A natureza e o tamanho da placa
- A preparação da amostra
- A direção do fluxo da fase móvel, etc.

Um método eficaz para a análise qualitativa de um composto, é comparar o RF de um composto desconhecido com um RF de uma substância padrão (Pereira, 2010).

Para a realização de processos quantitativos é necessário recorrer a outro tipo de métodos físicos ou químicos adequados, como por exemplo espectrometria de massa (Pereira, 2010).

Cromatografia líquida de alta resolução (CLAR)

Foi desenvolvida no início dos anos 60 e baseia-se na separação dos componentes de uma mistura através da sua distribuição diferencial entre uma fase móvel (líquida) e uma fase estacionária (sólida). A fase estacionária encontra-se disposta sob a forma de pequenas partículas, em colunas, através das quais a fase móvel flui sob alta pressão mediante um processo instrumentalizado (Pereira, 2010).

A fase estacionária refere-se à coluna cromatográfica, ou seja, um cilindro rígido (normalmente de aço) no interior do qual se encontra um material de enchimento formado por pequenas partículas (Chust, 1990).

A fase móvel ou solvente flui continuamente através do sistema, arrastando a amostra injetada pela coluna e pelo detetor (Chust, 1990).

As substâncias presentes na amostra, devido às suas distintas estruturas moleculares e grupos funcionais, dispõem de distintos graus de “afinidade” com as fases móvel e estacionária e por conseguinte as suas velocidades de migração serão igualmente

distintas, permitindo o desenvolvimento da separação cromatográfica. Pode-se então concluir que a substância com maior “afinidade” com a coluna é aquela que elui por último e, por oposição, a substância que elui em primeiro lugar será de menor “afinidade” com o enchimento (fase estacionária) (Chust, 1990).

A coluna cromatográfica é onde se dá o processo de separação das substâncias que compõem a amostra (Chust, 1990).

Para iniciar a análise é conveniente definir as características da amostra (Figura 21) (Chust, 1990).

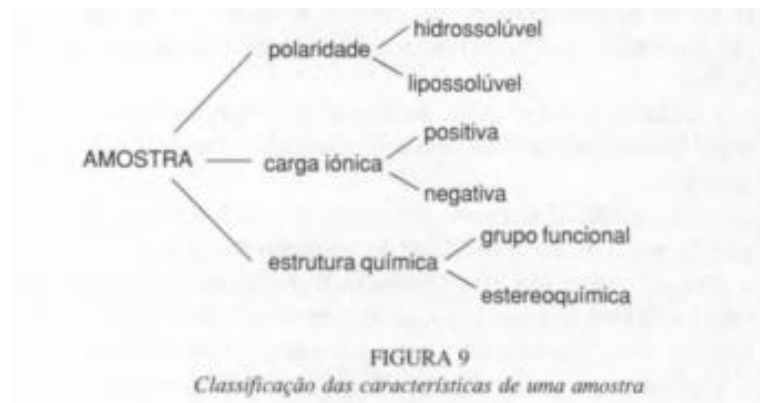


Figura 21: Características das amostras (Adaptado de (Chust, 1990))

Conforme as características da amostra, poder-se-á escolher o mecanismo de separação que melhor se adapte. Os mais usados são (Figura 22) (Chust, 1990):

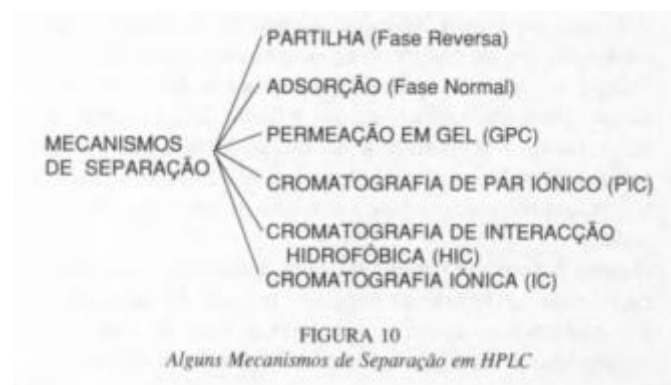


Figura 22: Mecanismos de separação das amostras (Adaptado de (Chust, 1990))

Além disso, numa coluna cromatográfica há a considerar 2 tipos de fatores que a caracterizam (Chust, 1990):

1. Fatores químicos, que dizem respeito ao enchimento (propriedades químicas, etc.)
2. Fatores mecânicos, que dizem respeito ao invólucro (comprimento, material, etc.)

Em relação ao enchimento o material mais utilizado é a sílica, devido à sua alta porosidade e consequente elevada área superficial, seja o enchimento unicamente de sílica ou de fase ligada (banded fase). Desta forma os fatores que afetam a performance da coluna e a escolha do tipo são (Chust, 1990):

- **Sílica- base:** Tamanho e forma da partícula; Área superficial; Distribuição dos tamanhos do poro
- **Tipo de fase ligada:** Grupo funcional; Fase monofuncional ou polifuncional
- Teor em carbono
- Segunda passagem da fase ligante
- Procedimentos de fabrico

Em relação aos mecanismos de separação, segue-se uma breve descrição dos vários existentes (Chust, 1990):

- **Adsorção (fase normal):** é caracterizada pela alta polaridade da fase estacionária (normalmente sílica) e pela baixa a média polaridade do solvente (hexano, clorofórmio, isopropanol, etc.). As suas principais aplicações são na separação de vitaminas lipossolúveis (A, D, E), ftalatos, fenóis, aflatoxinas e anilinas, etc.
- **Partilha (Fase reversa):** é o mais usado. Baseia-se na partilha de eletrões entre as nuvens eletrónicas das cadeias moleculares da fase estacionária ligada e da substância a separar, sendo estas interações originadas por ligações de pontes de hidrogénio instantâneas, forças de London e forças de Van der Waals. Em comparação com o mecanismo anterior, este é mais versátil. E além disso é mais barato, devido a ser constituído na sua maior parte por água, sendo também utilizados o metanol, o acetonitrilo e o tetrahidrofurano (solventes de alta ou média polaridade). O pH ótimo de utilização de uma coluna de HPLC é de 2 a 8. Acima de 8 a sílica solubiliza-se. Abaixo de 2 a fase ligada hidrolisa-se dando origem à reação inversa do processo de ligação de fase. O uso prolongado de eluente a baixo pH provoca uma considerável redução na vida útil de uma coluna de fase reversa. A sua aplicação irá depender do grupo funcional que caracteriza a coluna (por exemplo, C₁₈- vitaminas, aminoácidos, drogas terapêuticas, etc.; Fenil- ácidos gordos livres, compostos aromáticos, etc.).

Invólucro: 3 tipos principais (Chust, 1990):

1. Aço (Convencional)
2. Polietileno (cartuchos)
3. Vidro (metal- free chromatography)

A escolha tem a ver com razões de ordem química como de ordem económica. Os cartuchos possuem inferior durabilidade, porém são mais inertes e de mais baixo custo que o

aço. Já o vidro, devido ao seu carácter marcadamente inerte, é aplicado na separação de moléculas biologicamente ativas pois não as desnatura, no entanto devido à sua fragilidade não se lhes pode aplicar pressões elevadas, limitando a sua aplicação (Chust, 1990).

Equipamento: um cromatógrafo de líquidos é constituído por 4 componentes (Figura 23) (Chust, 1990):

1. Sistema de bombagem ou bomba
2. Sistema de injeção ou injetor
3. Sistema de deteção ou detetor
4. Sistema de tratamento de dados

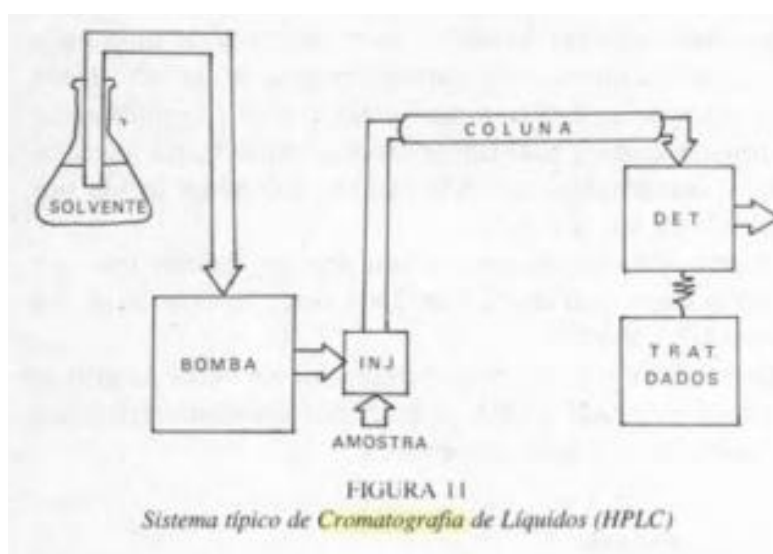


Figura 23: Sistema de HPLC (Adaptada de (Chust, 1990))

Sistema de injeção: pode ser de 3 tipos (Chust, 1990):

1. Injeção direta por seringa
2. Válvula de injeção (mais usada, porque origina uma maior reprodutibilidade no volume injetado e por conseguinte, melhores resultados em análise quantitativa)
3. Válvula de injeção automática (injetor automático)

Sistema de deteção: vários tipos (Chust, 1990):

1. **UV-VIS (Ultravioleta- Visível):** é o mais utilizado, pois apresenta o mais baixo custo, é praticamente insensível a pequenas variações de fluxo e temperatura e totalmente compatíveis para gradientes de solventes. Mede a diferença entre a intensidade da luz que passa pelas 2 células, ou seja, que não é absorvida, gerando um sinal elétrico que é amplificado e seguidamente convertido em unidades de absorção. A única desvantagem deste detetor é a sua seletividade, não podendo ser utilizado na deteção

de lípidos, hidrocarbonetos lineares, carboidratos, ácidos gordos e a maior parte dos polímeros.

2. **Fluorescência:** é o de maior sensibilidade (na ordem dos ppb- partes por bilião) possuindo todas as vantagens dos detetores UV-VIS e ainda a especificidade de permitir discriminar os constituintes de interesse numa matriz complexa de substâncias não fluorescentes. Incide-se o feixe luminoso sobre a célula da amostra e excita-se a mesma, originando-se a emissão de um feixe de luz ao retornar ao estado fundamental, o qual é seguidamente dirigido a um filtro que seleciona o comprimento de onda emitido, fazendo-o incidir no fotodetector. A sua desvantagem é o custo, o qual chega a ser 2-4 vezes superior ao de um detetor UV-VIS. As suas aplicações são na detecção de PAH's- Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos), OPA (o-ftaldialdeído), aminoácidos, esteroides, vitaminas e aditivos e corantes alimentares. Está descrita a aplicação desta técnica em diversos tipos de matrizes, nomeadamente fígado, sangue total, soro sanguíneo, plasma sanguíneo, conteúdo digestivo, bem como outro tipo de matérias como os iscos.

Existe uma grande variedade de tipos de fases móveis aplicadas, contudo em praticamente todos os casos analisados, são utilizados gradientes de eluição (altera-se a composição da fase móvel durante o desenvolvimento da análise com o objetivo de aumentar a eficiência da separação). Os solventes mais utilizados são o metanol, o acetonitrilo e o acetato de amónio (Chust, 1990).

No que diz respeito à sensibilidade da análise da CLAR comparada com a CCF, Rengel e Friedrich 1993, levaram a cabo um estudo em que analisaram tecidos (fígado, conteúdo digestivo e soro sanguíneo) e iscos de animais suspeitos de envenenamento por rodenticidas anticoagulantes. Das 5 amostras de fígado analisadas, nenhuma se apresentou positiva a CCF enquanto quando analisadas com CLAR de fase reversa com detetor de fluorescência 4 foram positivas. O mesmo ocorreu com a amostra de soro sanguíneo analisado. Os únicos resultados positivos similares apareceram nas amostras de isco. Assim, estes autores concluíram que a técnica de CLAR aplicada, é mais sensível para determinação de pequenas quantidades destes compostos (Pereira, 2010).

Observou-se o desenvolvimento de técnicas de análise em que se conjuga a CLAR com espectrometria de massa. Com aplicação destes métodos atingem-se limites de detecção mais baixos e uma precisão na identificação de compostos superiores (Pereira, 2010).

Cromatografia de fase Gasosa (CG)

É uma técnica analítica de separação de compostos baseada primariamente na volatilidade dos mesmos, isto é, na diferença no equilíbrio liquido-vapor dos diferentes compostos da amostra (Pereira, 2010).

Certas propriedades dos gases, quando comparadas com os líquidos, determinam as características e diferenças entre cromatografia gasosa e líquida (Pereira, 2010):

- As interações entre as moléculas dos gases, ao contrário dos líquidos, são normalmente pequenas. Por isso, na CG, a fase móvel não interage com as moléculas da amostra, tendo como única função o transporte da amostra através da coluna.
- Os gases têm um poder de difusão superior aos líquidos, o qual influi na resolução e velocidade de separação. Assim, a velocidades ótimas da fase móvel, a resolução é superior no caso da cromatografia líquida. Contudo a velocidade de separação é superior no caso da gasosa.
- A maior densidade dos líquidos comparativamente aos gases, permite a utilização da gravidade ou força centrífuga como força matriz da fase móvel, enquanto a pequena viscosidade dos gases permite a utilização de colunas mais compridas.

Esta técnica não possui a mesma dimensão na deteção de rodenticidas anticoagulantes como a CLAR. Quando utilizada aparece normalmente associada à espectrometria de massa (Pereira, 2010).

16. Objetivos do trabalho

O objetivo principal do presente trabalho consistiu numa pesquisa da exposição de uma espécie de aves de rapina noturna comum a nível nacional - *Tyto alba* – (Coruja-das-Torres) a agentes tóxicos rodenticidas e tentar deduzir um eventual envolvimento com a causa de morte do indivíduo e com a necrópsia realizada para verificar compatibilidades com possíveis efeitos sub-letais. O estudo incidiu-se maioritariamente nesta espécie porque é aquela que mais se alimenta de roedores.

Este estudo foi realizado com aves da região centro de Portugal, que deram entrada no período de 2010-2015 no CERVAS- Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens, em Gouveia, local onde foi efetuado um estágio curricular com a duração de seis meses (outubro/2015 a abril/2016),. Destas aves foi analisado o fígado de animais que chegaram mortos, que morreram durante o processo de recuperação ou que foram eutanasiados.

No total obtiveram-se 29 amostras (21 de Coruja-das-Torres (*Tyto alba*), 4 de Pato-real (*Anas platyrhynchos*), 3 de Gaivota-de-asa-escura (*Larus fuscus*) e 1 de Guincho- Comum (*Larus ridibundus*)).

Estas últimas amostras foram incluídas no estudo, paralelamente, com as Corujas-das-Torres, devido a situações emergentes que ocorreram durante o tempo de estágio e relacionadas com o aparecimento de diversos animais mortos no Parque Verde em Coimbra, sobre os quais havia uma suspeita de envenenamento porventura com rodenticidas.

17. Materiais e Métodos

O método utilizado é baseado em estudos anteriores de Philippe J. Thomas 2011 nos quais foram introduzidas alterações de procedimentos no sentido de otimização do mesmo. Este consiste em pesar 1g de fígado de coruja, adicionar 5g de sulfato de sódio anidro, cuja função é ajudar na maceração do fígado ligando-se às moléculas de água do mesmo terminando-se o processo com uma trituração mecânica em almofariz.

De seguida adiciona-se 10 ml de acetonitrilo e coloca-se durante 10 minutos em agitador magnético, centrifuga-se (Microcentrifuga Hermle; modelo Z233M;) durante 5 minutos a 13500 rpm (Rotações por minuto) e retira-se o sobrenadante para um tubo de plástico.

Repete-se a extração , retira-se o novo sobrenadante juntando-o ao primeiro

De seguida os tubos são levados à secura num evaporador (Hermle; modelo Maxy Dry Plus) sob vácuo, e recondicionados com metanol.

Reagentes:

- **Sulfato de sódio anidro para síntese:** SDS (Same Day Solutions) (Carlo Erba Reactifs)
- **Acetonitrilo para HPLC- Gradient:** SDS (Carlo Erba Reactifs)

Preparação de soluções padrão (stock):

As soluções padrão utilizadas foram:

- **Warfarina:** Sigma- Aldrich W-003- 1 ml; 1 mg/ml em acetonitrilo (validade: setembro de 2018)
- **Bromadiolona:** INMLCF-C (Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses - Centro) SQ287FK004; 1 mg/ml em acetonitrilo; (Validade: 14-1-2017)
- **Brodifenacume:** INMLCF-C (centro) SQ286EH001; 1 mg/ml em acetonitrilo; (Validade: 14-1-2017)

- **Difenacume:** INMLCF-C (centro) SQ290EH001; 1 mg/ml em acetonitrilo; (Validade: 14-1-2017)

Preparação de soluções padrão (trabalho):

Passou-se 1 ml das soluções anteriores para um balão de 10 ml realizando este passo para cada solução padrão. Ficou-se com uma concentração inicial de [100 µg/ml].

De cada solução obtida no primeiro passo retirou-se 100µL para um balão de 10 ml ficando então com as soluções de trabalho. Todas elas com uma concentração de [1ng/µL].

Todos os volumes foram diluídos com acetonitrilo.

Avaliação do rendimento de extração:

Foram enriquecidas amostras de fígado de porco (1g) com as seguintes concentrações: 50 ng/g; 150 ng/g; 250 ng/g; 350 ng/g; 450 ng/g a partir de cada uma das soluções de trabalho de bromadiolona, brodifenacume e difenacume. Foi adicionada a cada uma das amostras uma solução de Warfarina, como padrão interno, numa concentração de 100 ng/g.

Todas as amostras foram submetidas ao mesmo procedimento analítico indicado anteriormente.

Devido a problemas técnicos as amostras tiveram que ser analisadas pelo método HPLC com detetor de fluorescência, as condições da análise serão apresentadas em baixo.

Condições analíticas:

- HPLC Waters 2695D com detetor de Fluorescência 2475 (excitação a 263nm e emissão a 390nm)
- **Eluente:** Água desionizada: Acetonitrilo para HPLC (24:76); fluxo = 0,5mL/min (Isocrático e Temperatura de coluna =22C +/- 2C)
- Coluna LiChroSpher 100 RP-18E (125mm X 4.6mm, 5µm)

18. Resultados

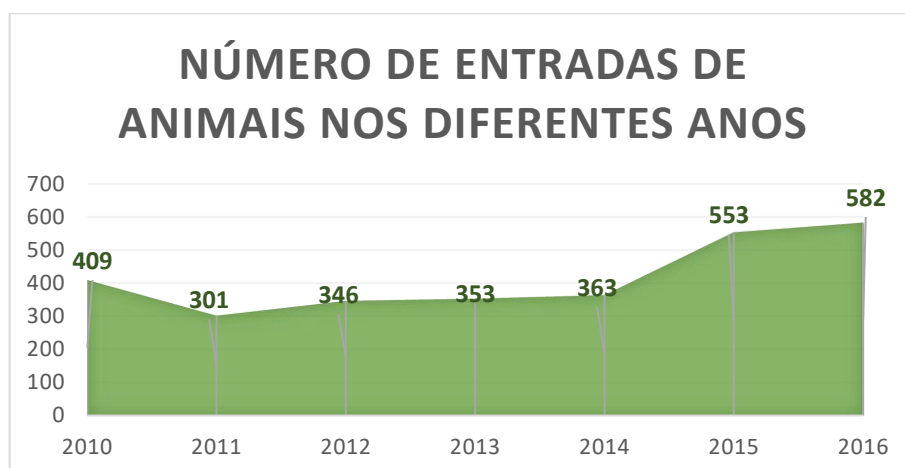


Gráfico 1: Número de entradas de animais nos diferentes anos em estudo

Em relação à Coruja-das-Torres, que são uma das espécies mais representadas no CERVAS, o número de ingressos tem sofrido algumas oscilações como mostra o gráfico seguinte (Figura 24):

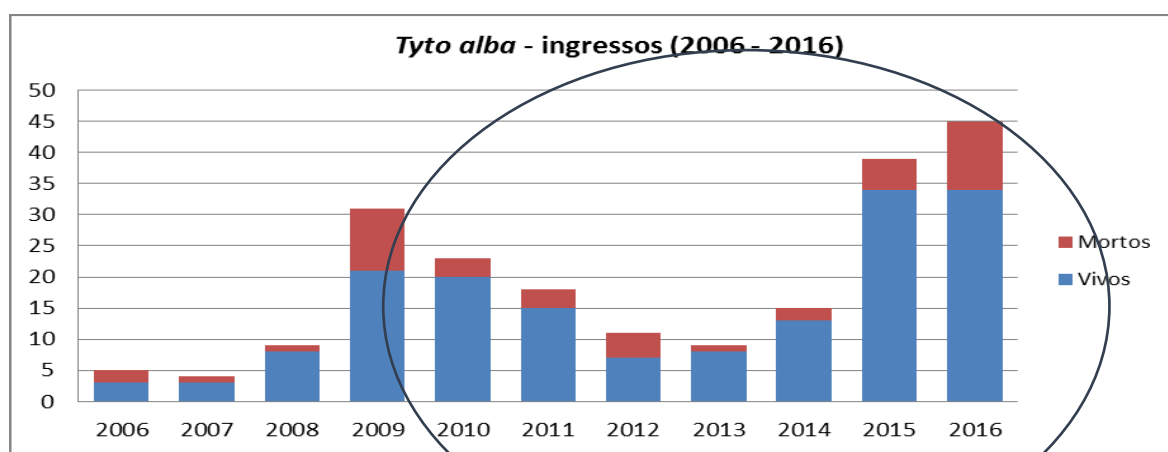


Fig 24: Ingressos de *Tyto alba* de 2006-2015 (Adaptado de (Brandão, 2016))

O seguinte gráfico demonstra o número de amostras de *Tyto alba* (Coruja-das-Torres) e o ano em que foram recolhidas (Gráfico 2):

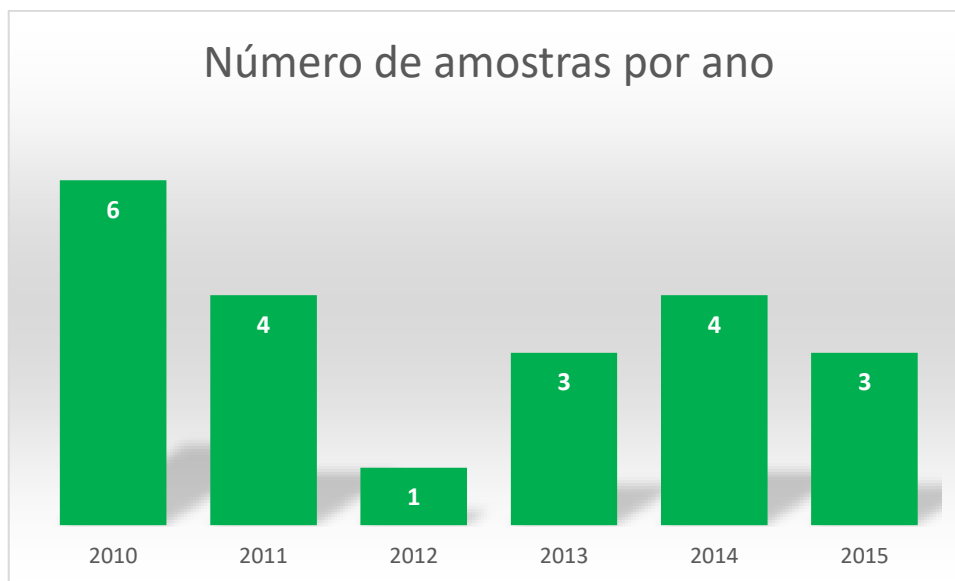


Gráfico 2: Número de amostras por ano de estudo

Em relação às outras amostras de Pato-real, de Gaivota-de-patas-amarelas, de Gaivota-de-asa-escura e de Guincho são todas de 2015.

As causas de ingresso das corujas em estudo foram as seguintes (Gráfico 3):

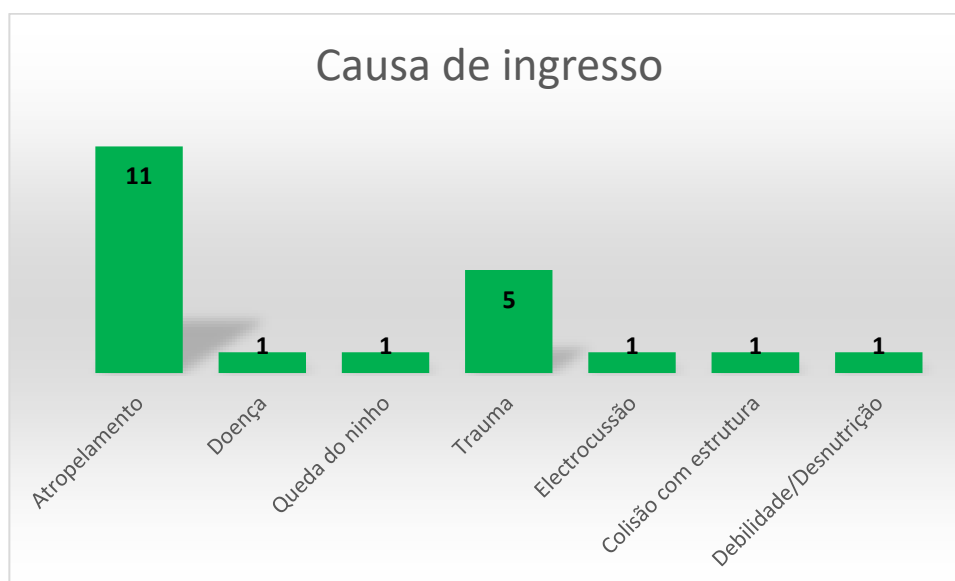


Gráfico 3: Causas de ingresso das corujas em estudo

Em relação às outras aves em estudo todas entraram por motivos de doença.

Das 21 corujas analisadas em apenas 6 não foram detetados quaisquer dos rodenticidas em estudo. De seguida apresenta-se uma tabela com os resultados obtidos (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados do estudo

Amostras	Bromadiolona	Difenacume	Brodifencoum	Idade
V119/11/A	ND	ND	ND	CRIA
V151/11/A	ND	ND	ND	ADULTO
M296/11/A	X	X	ND	A
M298/11/A	ND	X	X	A
M338/12/A	X	X	ND	A
M111/10/A	ND	X	X	A
V383/10/A	ND	X	X	INDETERMINADO
M387/10/A	X	X	ND	I
M309/10/A	ND	ND	ND	A
V282/13/A	X	X	ND	I
M235/13/A	X	ND	ND	A
V134/10/A	ND	ND	ND	A
V254/13/A	ND	ND	ND	A
V026/14/A	ND	ND	ND	A
M209/14/A	X	ND	ND	A
V258/14/A	X	X	ND	A
V110/14/A	X	ND	ND	C
V412/15/A	X	ND	ND	JOVEM
V051/10/A	X	X	ND	A
V158/15/A	X	ND	ND	A
V525/15/A	X	ND	ND	A

Foi feita uma compilação dos dados de necrópsia dos animais que apresentavam 1 ou mais rodenticidas (Tabela 4).

Tabela 4: Achados de necrópsia dos animais positivos

Amostra	Bromadiolona	Difenacume	Brodifenacume	Causa de Ingresso	Necrópsia
V119/11/A	ND	ND	ND	Trauma	Fratura exposta do tibeo-tarso
V151/11/A	ND	ND	ND	Atropelamento	Sem dados
M296/11/A	x	X	ND	Atropelamento	Fratura no crânio, mandíbula, clavícula (direita) e coracóide (direito); sangue livre na cavidade oral; hemorragias entre as costelas; hemorragia pulmonar; sangue na traqueia; rutura pulmonar.
M298/11/A	ND	X	X	Atropelamento	Exoftalmia em ambos os olhos; hematomas nos músculos peitorais; decapitação devido ao atropelamento; fratura do úmero esq; fratura distal da ulna / radio direito; fratura do fêmur direito; fratura do crânio, rutura da parede caudal da cavidade toraco-abdominal; presença de sangue na cavidade toraco-abdominal, coágulos livres;

					fígado hemorrágico, principalmente o lobo esquerdo; coração congestivo; pulmões hemorrágicos com consistência pulposa (liquefeitos).
M338/12/A	x	X	ND	Trauma	muito magro; depleção muscular; fígado hemorrágico; coração em decomposição; pulmões hemorrágicos.
M111/10/A	ND	X	X	Doença	Hematoma dorsal esquerdo; fratura diafisária do úmero esq; estômago com conteúdo hemorrágico; moela, intestino delgado e grosso hemorrágicos; cloaca com conteúdo líquido e presença de uratos. Hipertrofia das adrenais. Oviduto negro devido ao contacto com intestino hemorrágico.
V383/10/A	ND	X	X	Trauma	Fratura exposta do úmero da asa

					dir; pulmões com focos de necrose.
M387/10/A	x	X	ND	Atropelamento	Pulmões hemorrágicos. Rins congestivos. Fratura do tíbio-tarso distal e no tarso-metatarso do membro posterior direito. Sangue livre na cavidade toraco-abdominal. Sangue na cavidade oral. Proventrículo hemorrágico.
M309/10/A	ND	ND	ND	Debilidade / Desnutrição	Hemopericárdio. Pulmões anêmicos. Sacos aéreos espessados. Glândulas adrenais hipertrofiadas. Vesícula biliar repleta
V282/13/A	x	X	ND	Atropelamento	Sem dados
M235/13/A	x	ND	ND	Atropelamento	Pulmões hemorrágicos. Rins congestivos. Fratura do tíbio-tarso distal e no tarso-metatarso do membro posterior direito. Sangue livre na cavidade toraco-abdominal. Sangue na

					cavidade oral. Proventrículo hemorrágico. Fratura cominutiva em ambos os membros. Foco hemorrágico no crânio. Fígado em putrefação
V134/10/A	ND	ND	ND	Colisão com estrutura	Presença de hematomas na zona da cabeça. Pulmões bastante friáveis. Fratura dupla do cubito dir. Fratura exposta do radio dir. Fígado pálido e friável. Vesícula biliar não localizada. Foco hemorrágico no cérebro.
V254/13/A	ND	ND	ND	Eletrocussão	Queimadura da asa direita e do membro esquerdo com exposição óssea. Coração hemorrágico. Bastante gordura abdominal. Pulmões hemorrágicos. Fígado com aspeto congestivo e hemorrágico. Baço com aspeto congestivo e hemorrágico.
V026/14/A	ND	ND	ND	Trauma	Hematoma extenso na zona

					inguinal esquerda. Parasita adulto a atravessar a traqueia de um lado para o outro. Fratura proximal do úmero esq.
M209/14/A	x	ND	ND	Atropelamento	Hemorragias no proventrículo
V258/14/A	x	X	ND	Atropelamento	Hematoma na zona do púbis esq. Pulmões com focos hemorrágicos. Fratura exposta distal do úmero esq. Fratura simples medial do rádio cúbito esq. Fratura proximal do fêmur esq.
V110/14/A	x	ND	ND	Queda do ninho	Presença de sangue na boca. Abundante gordura abdominal. Hematomas nos músculos peitorais e zona cervical
V412/15/A	x	ND	ND	Trauma	Sem dados
V051/10/A	x	X	ND	Atropelamento	Coração hemorrágico. Pulmão esquerdo hemorrágico junto à parede costal. Fratura dupla do úmero esquerdo.

					Hemorragia craniana extensa.
V158/15/A	x	ND	ND	Atropelamento	Pulmões putrefactos. Fratura exposta do úmero esquerdo. Fratura do coracóide direito. Órgãos hemorrágicos.
V525/15/A	x	ND	ND	Atropelamento	Pouca gordura subcutânea. Fratura exposta do úmero distal esquerdo (2,6 cm de osso exposto). Cérebro congestivo.

Em relação ao estudo extra de seguida apresenta-se uma tabela com os dados recolhidos (Tabela 5).

Tabela 5: Resultados e achados de necrópsia dos animais do estudo paralelo

Amostra	Bromadiolona	Difenacume	Brodifenacume	Causa de Ingresso	Necrópsia
M491/15/A (Guincho Comum)	X	ND	ND	Doença	Abundante gordura abdominal. Fígado descolorado. Congestão dos vasos ao longo do sistema digestivo. Hemorragia na porção cranial do esófago. Congestão generalizada.

M030/16/A (Gaivota de Asa Escura)	x	ND	ND	Doença	Ligeira congestão subcutânea. Líquido amarelo no proventrículo. Estômago quase vazio com conteúdo esverdeado. Congestão intestinal. Fígado com extensas áreas hemorrágicas.
M029/16/A (Gaivota de Asa Escura)	X	ND	ND	Doença	Penas da cloaca sujas com tonalidade esverdeada. Coração congestivo na zona dos átrios. Muita gordura subcutânea. Presença de hemorragias extensas no tecido subcutâneo. Pulmões hemorrágicos. Rins congestivos e hemorrágicos. Conteúdo do proventrículo pouco abundante de cor verde, aparentemente vegetal. Extensa área hemorrágica do fígado. Sangue com consistência aquosa.
V488/15/A (Gaivota de Asa Escura)	X	ND	ND	Doença	Quadro hemorrágico generalizado.
M486/15/A (Pato Real)	X	ND	ND	Doença	Coração congestivo. Pulmões hemorrágicos. Cavidade oral muito congestiva-hemorrágica. Estômago com presença de pedras.
M487/15/A (Pato Real)	x	ND	ND	Doença	Bastante gordura subcutânea.

					<p>Traqueia hemorrágica principalmente ao nível dos brônquios.</p> <p>Pulmões hemorrágicos.</p> <p>Tiroides aumentadas. Rins hemorrágicos.</p> <p>Cavidade oral congestiva-hemorrágica.</p> <p>Cavidade toraco-abdominal hemorrágica, com cheiro intenso, meio adocicado.</p> <p>Ventrículo com presença de pedras.</p>
M495/15/A (Pato Real)	X	ND	ND	Doença	<p>Pele subcutânea muito hemorrágica.</p> <p>Pulmões hemorrágicos. Saída de líquido pelos pulmões. Zona cervical fraturada (compatível com torção do pescoço).</p> <p>Esófago e fígado muito hemorrágico.</p> <p>Presença de sementes e matéria vegetal verde.</p> <p>Congestão hemorrágica generalizada.</p>
M496/15/A (Pato Real)	X	ND	ND	Doença	<p>Coração muito congestivo. Bastante gordura subcutânea com congestão dos vasos. Fígado hemorrágico (gordo), com lóbulo</p>

					direito muito aumentado. Esófago congestivo.
--	--	--	--	--	--

De seguida apresenta-se um gráfico onde se estuda a época do ano e que os animais estudados entraram no CERVAS (Gráfico 4).

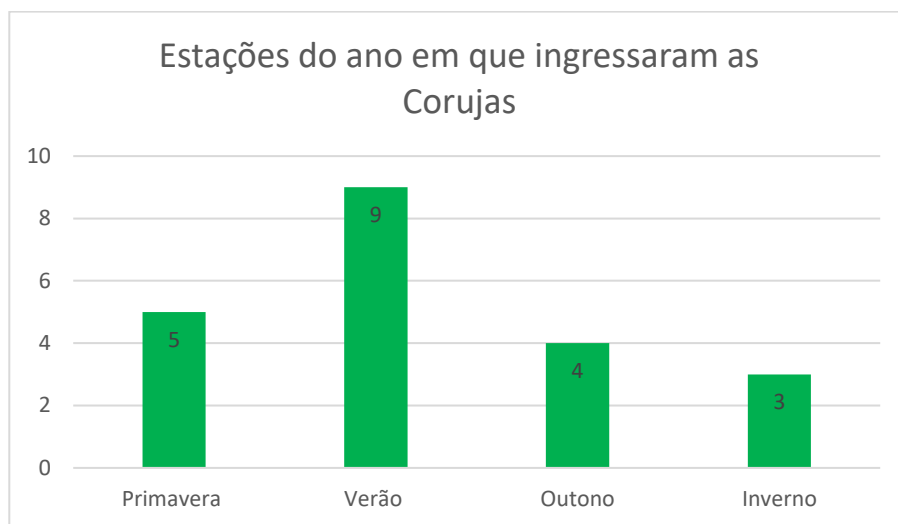


Gráfico 4: Estações do ano em que ingressaram as corujas

19. Discussão dos resultados

Foram analisados 29 animais, 21 dos quais Corujas-das-Torres, 1 Guincho Comum, 3 Gaivotas-de-Asa-Escura e 4 Patos-Reais.

Após as 21 análises às corujas verificou-se uma percentagem de positivos a rodenticidas de 71,43% (n=15). Sendo por isso a percentagem de animais onde não foram detetados rodenticidas de 28,57% (n=6).

Destas 21 corujas, em 12 foi detetada bromadiolona (em 6 esta estava isolada e nas outras 6 havia também vestígios de difenacume). O difenacume estava presente em 9 animais (6 dos quais em combinação com a bromadiolona e 3 em conjunto com o brodifenacume). Por fim o brodifenacume estava presente em 3 animais (nos 3 em conjunto com o difenacume).

Em relação ao estudo em paralelo, 100% dos animais (n=8) era positivo à presença de rodenticidas. Todos eles, apresentavam um só rodenticida dos estudados, a bromadiolona.

No que diz respeito à idade dos animais, 15 eram adultos, 2 eram crias, 1 era jovem e 3 não tinham idade determinada. Dos 15 adultos, 10 foram positivos à presença de resíduos de rodenticidas, o que é expectável pois são eles os responsáveis por caçar. 1 cria e 1 jovem

foram positivos o que pode explicar terem sido alimentados com roedores com resíduos de rodenticidas. Os 3 indeterminados foram positivos à presença de resíduos de rodenticidas.

Foram realizadas necrópsias a todos os animais e nas corujas positivas à presença de resíduos de rodenticidas, as lesões mais comuns foram as hemorragias (n=11) e as fraturas (n=10). Porém houveram outras lesões mais ligadas à causa de ingresso destes animais como hematomas (n=4), órgãos congestivos (n=4), putrefação dos órgãos (n=3), rutura pulmonar (n=1), exoftalmia (n=1), decapitação (n=1), hipertrofia das adrenais (n=1), cloaca com presença de uratos (n=1), e necrose dos órgãos (n=1).

Nas outras aves as lesões mais encontradas foram as hemorragias (n=8) e órgãos congestivos (n=6). Outras lesões presentes foram sangue com consistência aquosa (n=1), fraturas (n=1) e descoloração dos órgãos (n=1).

Nas corujas a principal causa de ingresso foi o atropelamento (n=11), seguido pelo trauma (n=5) e por fim doença (n=1), queda do ninho (n=1), eletrocussão (n=1), colisão com estrutura (n=1) e debilidade/desnutrição (n=1).

Nas outras aves estudadas a única causa de ingresso foi doença (n=8).

A maioria destes animais deu entrada no CERVAS no verão.

20. Conclusão

Apesar do grande número de aves testadas nos vários estudos, que foram expostas aos rodenticidas, um pequeno número, normalmente entre 5-10% são diagnosticadas na necrópsia como tendo sido envenenadas (Webster et al., 2015).

Enquanto os números “oficiais” de mortes de animais são pequenos, cálculos sugerem que apenas 1 em 4 aves que morrem são encontradas (Cooper, 2002).

As observações e dados são difíceis de traduzir em consequências mensuráveis que afetam os animais selvagens. Efeitos indiretos, como a alteração da disponibilidade de espécies que se alimentam de roedores, irá com certeza alterar a dinâmica predador-presa.

Em Coruja-das-Torres, estudos demonstram, que o brodifenacume tem maior toxicidade que a bromadiolona (Mendenhall e Park, 1980) e o difenacume (Newton et al., 1990).

Neste estudo concluiu-se que as lesões que aparecem mais vezes são compatíveis com os efeitos sub-letais que poderão aparecer aquando a ingestão de doses baixas de resíduos de rodenticidas. Também as causas de ingresso são compatíveis com os efeitos

tóxicos, uma vez que os animais vão estar mais predispostos a atropelamentos, colisões com estruturas, etc., devido ao mecanismo de ação dos rodenticidas, nomeadamente, entre outros sintomas, hemorragias internas.

A maioria destes animais deu entrada no CERVAS no verão, o que não vai de encontro com Husan e Rennison (1981) que descobriram que as infestações na agricultura, em Inglaterra, acontecem entre o fim do Verão e o Inverno. Os autores sugeriram que os ratos apareciam nas explorações quando a disponibilidade de comida diminui após a colheita, o que leva a que haja um controlo de pragas por parte dos agricultores nesta época. Isto aumenta o risco de exposição aos rodenticidas por parte dos predadores durante este período (Geduhn et al., 2016). Não foi possível, neste trabalho, fazer uma comparação entre a época do ano e o resultado positivo ou negativo para resíduos de rodenticidas.

O facto de o número de entradas no CERVAS ter aumentado não quer dizer necessariamente que haja cada vez mais animais feridos, mas por ventura indicar uma melhor informação por parte da população em geral e das autoridades.

Não foi possível estabelecer uma relação causa-efeito entre as variáveis género, destino dado aos animais e distribuição geográfica dos animais (Apêndice 1).

Uma estratégia para contrariar a utilização abusiva de venenos na prática de controlo de pragas poderá ser através da criação de programas de cariz de proteção ambiental e de espécies selvagens, como o Programa Antídoto Portugal em janeiro de 2003 com o objetivo de avaliar os efeitos do uso de veneno sobre as populações de animais selvagens e estabelecimento de medidas de controlo e minimização deste problema. Existem exemplos de alternativas como o caso da processionária (*Thaumetopoea pityocampa*), em que diversos municípios, têm apoiado programas de erradicação desta lagarta, disponibilizando ninhos de Chapim-Azul (*Cyanistes caeruleus*) para que estes se instalem, controlando assim a população de processionária (lagarta do pinheiro), sem recurso a substâncias químicas, pois estas aves alimentam-se das lagartas.

No caso concreto da espécie em estudo poderá ser interessante criar um habitat favorável para a instalação das corujas e de outras rapinas e levar a uma redução do uso de rodenticidas.

Estes programas devem ser apoiados e incentivados devido à sua extrema importância no ambiente.

Um fator determinante para se avaliar em escala temporal os impactos toxicológicos numa determinada espécie, são os censos de espécie(s). Este tipo de estudos é um dos

grandes indicadores de equilíbrio de um ecossistema, permitindo avaliar agressões tóxicas numa linha equivalente de metodologias como as que foram utilizadas nos célebres estudos de Rachel Carson em 1962 -“Silent Spring”, através dos quais pela monitorização (redução) do número de indivíduos de uma determinada população de Águias-de-Cabeça-Branca (*Haliaeetus leucocephalus*), se apercebeu de uma relação causa-efeito dos denominados desreguladores endócrinos.

O conhecimento dos censos, associados a projetos de cariz analítico, como o presente, que tanto quanto é do nosso conhecimento foi o primeiro estudo orientado para esta espécie realizado em Portugal, deverão constituir dois polos de investigação fundamentais para um adequado conhecimento de impacto toxicológico em animais silvestres.

21. Bibliografia

- Albert, C. A., Wilson, L. K., Mineau, P., Trudeau, S., & Elliott, J. E. (2010). Anticoagulant Rodenticides in Three Owl Species from Western Canada, 1988–2003. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(2), 451–459. <http://doi.org/10.1007/s00244-009-9402-z>
- Álvares, F. (2003). O ENVENENAMENTO ILEGAL E A AGONIA DA FAUNA SELVAGEM PORTUGUESA. *Tribuna Da Natureza*, pp. 53–75.
- Armentano, A., Iammarino, M., Magro, S. Lo, & Muscarella, M. (2012). Validation and application of multi-residue analysis of eight anticoagulant rodenticides by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(2), 307–311. <http://doi.org/10.1177/1040638711433354>
- Atlanlusi. (2012). *Catalogo-Controlo-Pragas.pdf*.
- Benson Labs. (n.d.). *Rat Growth*.
- Berny, P. J., Buronfosse, T., & Lorgue, G. (1995). Anticoagulant Poisoning in Animals: A Simple New High-Performance Thin-Layer Chromatographic (HPTLC) Method for the Simultaneous Determination of Eight Anticoagulant Rodenticides in Liver Samples. *Journal of Analytical Toxicology*, 19(7), 576–580. <http://doi.org/10.1093/jat/19.7.576>
- Berny, P., Vilagines, L., Cugnasse, J.-M., Mastain, O., Chollet, J.-Y., Joncour, G., & Razin, M. (2015). VIGILANCE POISON: Illegal poisoning and lead intoxication are the main factors affecting avian scavenger survival in the Pyrenees (France). *Ecotoxicology and*

- Environmental Safety*, 118, 71–82. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.003>
- Brakes, C. R., & Smith, R. H. (2005). Exposure of non-target small mammals to rodenticides : short-term effects , recovery and implications for secondary, 118–128. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.00997.x>
- Brandão, R. (2016). *RELATÓRIO DE ACTIVIDADES 2016*. Gouveia.
- Brown, P., Charlton, A., Cuthbert, M., Barnett, L., Ross, L., Green, M., ... Fletcher, M. (1996). Identification of pesticide poisoning in wildlife. *Journal of Chromatography A*, 754(1–2), 463–478. [http://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00311-1](http://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00311-1)
- Brown, P. R., & Singleton, G. R. (1998). Efficacy of brodifacoum to control house mice, *Mus domesticus*, in wheat crops in Southern Australia. *Crop Protection*, 17(4), 345–352. [http://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)00026-X](http://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00026-X)
- Buckle, A. (2013). Anticoagulant resistance in the United Kingdom and a new guideline for the management of resistant infestations of Norway rats (*Rattus norvegicus* Berk.). *Pest Management Science*, 69(3), 334–341. <http://doi.org/10.1002/ps.3309>
- Christensen, T. K., Lassen, P., & Elmeros, M. (2012). High Exposure Rates of Anticoagulant Rodenticides in Predatory Bird Species in Intensively Managed Landscapes in Denmark. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(3), 437–444. <http://doi.org/10.1007/s00244-012-9771-6>
- Chust, R. B. (1990). Introdução Cromatografia de Líquidos. *BOLETIM SOCIEDADE PORTUGUESA DE QUÍMICA*, 43–54. Retrieved from <http://www.spq.pt/magazines/BSPQ/563/swf>
- COEURDASSIER, M., RIOLS, R., DECORS, A., MIONNET, A., DAVID, F., QUINTAINE, T., ... GIRAUDOUX, P. (2014). Unintentional Wildlife Poisoning and Proposals for Sustainable Management of Rodents. *Conservation Biology*, 28(2), 315–321. <http://doi.org/10.1111/cobi.12230>
- Cooper, J. E. (2002). *Birds of Prey*. (Blackwell Science, Ed.), *Birds of Prey: Health & Disease* (3ª ed.). Oxford, UK: Blackwell Science Ltd. <http://doi.org/10.1002/9780470752319>
- DGAV. (2013). *Plano de Ação Nacional para o Uso Sustentável de Produtos Fitofarmacêuticos - Volume II* (Vol. II). Lisboa.
- DGAV. (2016). *Vendas De Produtos Fitofarmacêuticos Em Portugal Em 2014*. Lisboa.

- E.A. Barnett, M.R. Fletcher, K. Hunter, and E. A. S. (2002). *Pesticide Poisoning of Animals 2001*. London.
- Eason, C. T., Murphy, E. C., Wright, G. R. G., & Spurr, E. B. (2002). Assessment of Risks of Brodifacoum to Non-target Birds and Mammals in New Zealand. *Ecotoxicology*, 11(1), 35–48. <http://doi.org/10.1023/A:1013793029831>
- Elliott, J. E., Hindmarch, S., Albert, C. A., Emery, J., Mineau, P., & Maisonneuve, F. (2014). Exposure pathways of anticoagulant rodenticides to nontarget wildlife. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(2), 895–906. <http://doi.org/10.1007/s10661-013-3422-x>
- Gallocchio, F., Basilicata, L., Benetti, C., Angeletti, R., & Binato, G. (2014). Multi-residue determination of eleven anticoagulant rodenticides by high-performance liquid chromatography with diode array/fluorimetric detection: Investigation of suspected animal poisoning in the period 2012–2013 in north-eastern Italy. *Forensic Science International*, 244, 63–69. <http://doi.org/10.1016/j.forsciint.2014.08.012>
- Gamelin, L., & Harry, P. (2005). Rodenticides. *EMC - Toxicologie-Pathologie*, 2(3), 89–97. <http://doi.org/10.1016/j.emctp.2005.05.001>
- Geduhn, A., Esther, A., Schenke, D., Gabriel, D., & Jacob, J. (2016). Prey composition modulates exposure risk to anticoagulant rodenticides in a sentinel predator, the barn owl. *Science of The Total Environment*, 544, 150–157. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.117>
- Giraudoux, P., Tremollières, C., Barbier, B., Defaut, R., Rieffel, D., Bernard, N., ... Berny, P. (2006). Persistence of bromadiolone anticoagulant rodenticide in *Arvicola terrestris* populations after field control. *Environmental Research*, 102(3), 291–298. <http://doi.org/10.1016/j.envres.2006.02.008>
- Group, B., Biodiversity, N., & Taxon, N. (2002). Barn Owl. UK.
- Hindmarch, S., & Elliott, J. E. (2014). A specialist in the city: the diet of barn owls along a rural to urban gradient. *Urban Ecosystems*, 18(2), 477–488. <http://doi.org/10.1007/s11252-014-0411-y>
- Hoff, V., & Beersma, P. (n.d.). Rodenticides or the risks of Brodifacoum for owls.
- Howald, G. R., Mineau, P., Elliott, J. E., & Cheng, K. M. (1999). Brodifacoum Poisoning of Avian Scavengers During Rat Control on a Seabird Colony. *Ecotoxicology*, 8(6), 431–

447. <http://doi.org/10.1023/A:1008951701780>
- Huang, A. C., Elliott, J. E., Hindmarch, S., Lee, S. L., Maisonneuve, F., Bowes, V., ... Martin, K. (2016). Increased rodenticide exposure rate and risk of toxicosis in barn owls (*Tyto alba*) from southwestern Canada and linkage with demographic but not genetic factors. *Ecotoxicology*, 25(6), 1061–1071. <http://doi.org/10.1007/s10646-016-1662-6>
- I. Newton, I. Wyllie, and L. D. (1997). Mortality Causes in British Barn Owls (*Tyto alba*), Based on 1,101 Carcasses Examined During 1963-1996. In T. H. Duncan, James R.; Johnson, David H.; Nicholls (Ed.), *Biology and conservation of owls of the Northern Hemisphere: 2nd International symposium* (pp. 299–307). St. Paul: Gen. Tech. Rep. MN: U.S. Dept. of Agriculture, Forest Service, North Central Forest Experiment Station.
- Imran, M., Shafi, H., Wattoo, S. A., Chaudhary, M. T., & Usman, H. F. (2015). Analytical methods for determination of anticoagulant rodenticides in biological samples. *Forensic Science International*, 253, 94–102. <http://doi.org/10.1016/j.forsciint.2015.06.008>
- J.E. Dowding, E. C. M. and C. R. V. (1999). BRODIFACOUM RESIDUES IN TARGET AND NON-TARGET SPECIES FOLLOWING AN AERIAL POISONING OPERATION ON. *New Zealand Journal of Ecology*, 23(2), 207–214.
- Lambert, O., Pouliquen, H., Larhantec, M., Thorin, C., & L'Hostis, M. (2007). Exposure of Raptors and Waterbirds to Anticoagulant Rodenticides (Difenacoum, Bromadiolone, Coumatetralyl, Coumaten, Brodifacoum): Epidemiological Survey in Loire Atlantique (France). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(1), 91–94. <http://doi.org/10.1007/s00128-007-9134-6>
- Langford, K. H., Reid, M., & Thomas, K. V. (2013). The occurrence of second generation anticoagulant rodenticides in non-target raptor species in Norway. *Science of The Total Environment*, 450–451, 205–208. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.100>
- Lotfi, H., Dreyfuss, M. F., Marquet, P., Debord, J., Merle, L., & Lachatre, G. (1996). A Screening Procedure for the Determination of 13 Oral Anticoagulants and Rodenticides. *Journal of Analytical Toxicology*, 20(2), 93–100. <http://doi.org/10.1093/jat/20.2.93>
- Mancha, C. (2001). *Tyto alba*.
- Marek, L. J., & Koskinen, W. C. (2007). Multiresidue Analysis of Seven Anticoagulant Rodenticides by High-Performance Liquid Chromatography/Electrospray/Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 571–576.

<http://doi.org/10.1021/jf061440y>

Pereira, F. L. S. (2010). *INCIDÊNCIA DE RODENTICIDAS EM AVES DE RAPINA: ESTUDO DE PREVALÊNCIA E POSSÍVEIS EFEITOS SECUNDÁRIOS*. UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA.

PESTICIDE POISONING RAPTORS AND YOU. (n.d.).

R. Eric Miller; Murray Fowler. (2012). *FOWLER'S Zoo and Wild Animal Medicine CURRENT THERAPY Vol. 7*. (P. Rudolph, Ed.) (1ª ed.). St. Louis: Linda Duncan-Elsevier.

Ramesh C. Gupta. (2012). *VETERINARY TOXICOLOGY*. (R. C. GUPTA, Ed.), *Veterinary Toxicology* (2ª ed.). Waltham: Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-385926-6.00054-5>

Rattner, B. A., Horak, K. E., Lazarus, R. S., Eisenreich, K. M., Meteyer, C. U., Volker, S. F., ... Johnston, J. J. (2012). Assessment of toxicity and potential risk of the anticoagulant rodenticide diphacinone using Eastern screech-owls (*Megascops asio*). *Ecotoxicology*, 21(3), 832–846. <http://doi.org/10.1007/s10646-011-0844-5>

Rattner, B. A., Lazarus, R. S., Elliott, J. E., Shore, R. F., & van den Brink, N. (2014). Adverse Outcome Pathway and Risks of Anticoagulant Rodenticides to Predatory Wildlife. *Environmental Science & Technology*, 48(15), 8433–8445. <http://doi.org/10.1021/es501740n>

Richard F. Shore, Claire L. Wienburg, S. D. and D. O. (2002). *JNCC Report Proposals for potential modifications to the Bird of Prey Monitoring Scheme*. Peterborough.

Ruiz-Suárez, N., Henríquez-Hernández, L. A., Valerón, P. F., Boada, L. D., Zumbado, M., Camacho, M., ... Luzardo, O. P. (2014). Assessment of anticoagulant rodenticide exposure in six raptor species from the Canary Islands (Spain). *Science of The Total Environment*, 485–486, 371–376. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.094>

Salim, H., Mohd. Noor, H., Hamid, N. H., Omar, D., Kasim, A., & Z. Abidin, M. R. (2015). The Effects of Rodenticide Residues Deposited in Eggs of *Tyto alba* to Eggshell Thickness. *Sains Malaysiana*, 44(4), 559–564. <http://doi.org/10.17576/jsm-2015-4404-10>

Sánchez-Barbudo, I. S., Camarero, P. R., & Mateo, R. (2012). Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain. *Science of The Total Environment*, 420, 280–288. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.028>

- Shaw, G. (2010). BARN OWL.
- Sheffield, S. R. (1996). *Owls as Biomonitors of Environmental Contamination*.
- Shimshoni, J. A., Soback, S., Cuneah, O., Shlosberg, A., & Britzi, M. (2013). New validated multiresidue analysis of six 4-hydroxy-coumarin anticoagulant rodenticides in hen eggs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(6), 736–743.
<http://doi.org/10.1177/1040638713501510>
- Simões, J. S. (2005). *Fitofarmacêuticos na Agricultura e Ambiente*. (S. – S. P. de I. Consultadoria, Ed.), *Design*. Porto: Principia, Publicações Universitárias e Científicas.
- Solymar, B. (2001). Rodenticides : Mode of Action and Formulations Poisoning of Non-Target Wildlife.
- Solymár, B. D., & Mccracken, J. D. (2002). *DRAFT NATIONAL RECOVERY PLAN FOR Prepared by And. Ontario*.
- Stone, W. B., Okoniewski, J. C., & Stedelin, J. R. (1999). POISONING OF WILDLIFE WITH ANTICOAGULANT RODENTICIDES IN NEW YORK. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(2), 187–193. <http://doi.org/10.7589/0090-3558-35.2.187>
- Stone, W. B., Okoniewski, J. C., & Stedelin, J. R. (2003). Anticoagulant Rodenticides and Raptors: Recent Findings from New York, 1998-2001. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(1), 34–40. <http://doi.org/10.1007/s00128-002-0152-0>
- Thomas, P. J., Mineau, P., Shore, R. F., Champoux, L., Martin, P. A., Wilson, L. K., ... Elliott, J. E. (2011). Second generation anticoagulant rodenticides in predatory birds: Probabilistic characterisation of toxic liver concentrations and implications for predatory bird populations in Canada. *Environment International*, 37(5), 914–920.
<http://doi.org/10.1016/j.envint.2011.03.010>
- Webster, K. H., Harr, K. E., Bennett, D. C., Williams, T. D., Cheng, K. M., Maisonneuve, F., & Elliott, J. E. (2015). Assessment of toxicity and coagulopathy of brodifacoum in Japanese quail and testing in wild owls. *Ecotoxicology*, 24(5), 1087–1101.
<http://doi.org/10.1007/s10646-015-1449-1>
- Yan, H., Qiao, Z., Shen, B., Xiang, P., & Shen, M. (2016). Plasma metabolic profiling analysis of toxicity induced by brodifacoum using metabonomics coupled with multivariate data analysis. *Forensic Science International*, 267, 129–135.
<http://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.08.027>

22. Apêndices e Anexos

Anexo 1: Fotografias de atividades realizadas no estágio



Fotografias 11, 12 e 13: Instalações do CERVAS onde foi realizado o estágio (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)





Fotografias 14, 15 e 16: Exemplo de Libertação de um animal recuperado no CERVAS (Bufo Real: *Bubo bubo*) (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)



Fotografias 17, 18 e 19: Exemplo de saída de campo sobre micoturismo (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)

Anexo 2: Alguns exemplares da espécie estudada



Fotografia 20, 21 e 22: Alguns exemplares de Coruja-das-Torres (*Tyto alba*) (cedidas por Dr. Ricardo Brandão)

Anexo 3: Regulamentação

Seguidamente, identifica-se, a legislação nacional e comunitária cuja aplicação no território nacional tem repercussões diretas ou indiretas na comercialização e utilização de produtos fitofarmacêuticos (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*):

Colocação no mercado de produtos fitofarmacêuticos

- **Decreto-Lei nº 94/98 de 15 de abril**, que enuncia as normas técnicas de execução do Decreto-lei nº 284/94 de 11 de novembro, que transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva 91/414/CEE, do Conselho, de 25 de julho, relativa à colocação no mercado de produtos fitofarmacêuticos, e estabelece o regime de homologação, autorização, lançamento no mercado, utilização, controlo e fiscalização de produtos fitofarmacêuticos.

A implementação da Diretiva 91/414/CEE a nível comunitário e nacional, previa a revisão à luz de determinadas exigências, em matéria de propriedades físicas e químicas,

métodos de análise, toxicologia e saúde dos consumidores, ecotoxicologia e ambiente, coerentes com o progresso técnico científico então verificado, de cerca de 1000 substâncias ativas e culminou com a retirada do mercado comunitário de mais de 600 substâncias ativas, reduzindo-se, assim, significativamente, o número de substâncias passíveis de utilizar em produtos fitofarmacêuticos. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

Este diploma foi, entretanto, revogado pelo Regulamento (CE) nº 1107/2009, aplicando-se transitoriamente, contudo, algumas disposições particulares previstas naquele diploma. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

- **Regulamento (CE) nº 1107/2009** do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro, relativo à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado e que revoga as Diretivas 79/117/CEE e 91/414/CEE do Conselho.

Compreende, entre outros aspetos, a avaliação do seu destino e comportamento nos diversos compartimentos ambientais, solo, águas subterrâneas e superficiais, ar e efeitos sobre organismos não visados com a sua utilização, nomeadamente plantas, aves e outros vertebrados terrestres, organismos aquáticos incluindo peixes, invertebrados, algas e plantas superiores, artrópodes úteis incluindo abelhas e outros polinizadores, macro e microrganismos do solo e, ainda, o possível impacto no tratamento de águas residuais. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

Este diploma incorpora, ainda, aspetos de particular importância que também concorrem para os objetivos delineados na Diretiva nº 128/2009/CE, nomeadamente, a obrigatoriedade de registo de todas as atividades profissionais relacionadas com a colocação no mercado, comercialização e distribuição e, ainda, a aplicação de produtos fitofarmacêuticos, dedicando, igualmente, particular atenção ao uso correto de produtos fitofarmacêuticos. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

Comercialização, distribuição e utilização de produtos fitofarmacêuticos

- **Decreto-Lei nº 173/2005, de 21 de outubro**, que regula as atividades de distribuição, venda, prestação de serviços de aplicação de produtos fitofarmacêuticos e a sua aplicação pelos utilizadores finais.

Através deste quadro legal, foram definidos os fundamentos de uma venda responsável de produtos fitofarmacêuticos, através da criação da figura do técnico responsável pelas atividades de distribuição e venda ao qual é exigida formação adequada às suas funções, o mesmo se aplicando ao operador de venda, cujas funções estão relacionadas com venda e manipulação dos produtos fitofarmacêuticos. Este diploma contribuiu, também, para a promoção de boas praticas no armazenamento de produtos fitofarmacêuticos, criando medidas disciplinadoras para o exercício de atividades de distribuição e venda de produtos fitofarmacêuticos, para a instalação de locais de armazenamento ou distribuição de produtos e, ainda, no licenciamento de postos de venda destes produtos, obedecendo, ainda, à legislação em vigor relativa a higiene e segurança no trabalho e de proteção contra riscos de incêndios. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

Foi, ainda, através deste quadro legal, criado um regime sancionatório para a comercialização e utilização indevida de produtos fitofarmacêuticos restringindo a sua aplicação apenas a utilizadores profissionais que demonstrem competência técnica e estejam munidos dos respetivos certificados. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

- **Lei nº 26/2013**, que regula as atividades de distribuição, venda e aplicação de produtos fitofarmacêuticos para uso profissional e de adjuvantes de produtos fitofarmacêuticos e define os procedimentos de monitorização à utilização dos produtos fitofarmacêuticos, transpondo a Diretiva n.º 2009/128/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro, que estabelece um quadro de ação a nível comunitário para uma utilização sustentável dos pesticidas e revogando a Lei n.º 10/93, de 6 de abril, e o Decreto-Lei n.º 173/2005, de 21 de outubro.

Este diploma vem atualizar e reforçar as disposições anteriormente estabelecidas no D.L. n.º 173/2005, revogando-o. Constitui, contudo, uma adaptação às novas orientações comunitárias estabelecidas no quadro da Diretiva 2009/128, a qual assenta na utilização sustentável dos pesticidas através da redução dos riscos e efeitos da sua utilização na saúde humana e no ambiente, promovendo o recurso à proteção integrada ou a técnicas alternativas, tais como as alternativas não químicas aos pesticidas. São, portanto, desenvolvidos neste diploma, os aspetos relativos à segurança na comercialização, no armazenamento e na utilização de produtos fitofarmacêuticos e a monitorização dos registos relativos a essas atividades; são reguladas as aplicações aéreas, obedecendo, todavia ao princípio geral de proibição; e é também regulada a aplicação de produtos fitofarmacêuticos em espaços

urbanos, áreas de lazer e vias de comunicação. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

- **Decreto-Lei nº 101/2009, de 11 de maio**, que regula o uso não profissional de produtos fitofarmacêuticos em ambiente doméstico, estabelecendo condições para a sua autorização, venda e aplicação.

Este diploma destina-se a enquadrar a autorização, venda e utilização de produtos fitofarmacêuticos em ambiente doméstico e por utilizadores não profissionais, sendo que estes produtos podem ser adquiridos, manuseados e aplicados pelo público em geral na proteção fitossanitária a nível doméstico, quer no interior das suas habitações quer nos terrenos circundantes ou próximos. Deriva, naturalmente, deste enquadramento que ao público em geral é restringido o acesso a certas categorias de produtos, nomeadamente os produtos considerados de elevada toxicidade para o homem ou que representem uma perigosidade particular para a saúde humana em resultado da exposição ao produto durante o seu manuseamento ou aplicação. A estes produtos é, contudo, permitida a sua comercialização em espaços comerciais, ainda que em espaços não destinados exclusivamente à venda de produtos fitofarmacêuticos, devendo, contudo, estar separados dos restantes bens de consumo. Os estabelecimentos de venda devem, ainda, e para estes produtos, assegurar que estão disponíveis ou podem ser fornecidas informações tendo em vista o seu manuseamento e utilização em segurança, quando da sua aquisição pelo público em geral. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

É, também, neste diploma vedada a aplicação por utilizadores não profissionais, de produtos fitofarmacêuticos autorizados para uso por agricultores e outros aplicadores profissionais. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

- **Decreto-Lei nº 86/2010, de 15 de julho**, que estabelece o regime de inspeção obrigatória dos equipamentos de aplicação de produtos fitofarmacêuticos autorizados para uso profissional.

A publicação do Decreto-Lei nº 86/2010 estabeleceu o regime de inspeção obrigatória dos equipamentos de aplicação terrestre de produtos fitofarmacêuticos autorizados para uso profissional e transpôs para o ordenamento jurídico interno a Diretiva 128/2009/CE no respeitante ao seu artigo 8º. Em particular, visa assegurar que todos os equipamentos de aplicação de produtos fitofarmacêuticos devam ser inspecionados regularmente prevendo, contudo, a isenção de inspeção dos equipamentos de aplicação

manual e dos equipamentos que não se destinam a pulverização de produtos fitofarmacêuticos sem descurar a necessidade de uma verificação, calibração e manutenção periódica dos aparelhos de modo a assegurar o seu correto funcionamento. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

São, ainda neste âmbito, criados Centros de Inspeção Periódica obrigatória dos equipamentos de aplicação de produtos fitofarmacêuticos (Centros IPP), devidamente licenciados, e está prevista a habilitação de técnicos com formação adequada para a inspeção dos equipamentos e acessórios essenciais para o seu correto funcionamento. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

- **Decreto-Lei nº 187/2006 de 19 de setembro**, que estabelece as condições e procedimentos de segurança no âmbito dos sistemas de gestão de resíduos de embalagens e de resíduos de excedentes de produtos fitofarmacêuticos.

Ao abrigo do Decreto-Lei n.º 187/2006 é estabelecido o enquadramento legal para a gestão de resíduos de embalagens e de resíduos de excedentes de produtos fitofarmacêuticos ao nível da exploração agrícola e são definidos procedimentos para o seu acondicionamento e recolha, quer na exploração, quer no local de receção, respeitando princípios de segurança ambiental, vindo, portanto, complementar e alterar as disposições estabelecidas no artigo 19.º do Decreto-Lei n.º 173/2005. O diploma regulamenta o funcionamento dos sistemas de gestão (individual ou coletivo) daqueles resíduos, remetendo o seu licenciamento/autorização para a Portaria n.º 29-B/98, de 15 de janeiro, assentes na coresponsabilização dos vários intervenientes, desde as empresas detentoras de autorização de venda ou de importação paralela de produtos fitofarmacêuticos aos utilizadores finais. São, ainda, definidos os procedimentos de segurança a que devem obedecer as instalações utilizadas para a receção, recolha, armazenamento temporário e encaminhamento de resíduos de embalagens e de resíduos de excedentes de produtos fitofarmacêuticos. De acordo com estes procedimentos, o agricultor na sua exploração, procede, conforme indicação no rótulo do respetivo produto, a operações tendentes à minimização do nível de resíduos na embalagem, incluindo a tripla lavagem e eventual inutilização da embalagem vazia, dependendo do tipo material e capacidade da embalagem; ao seu acondicionamento em sacos de recolha e envio posterior para centros de receção autorizados, em datas pré estabelecidas, os quais encaminham esses resíduos, no âmbito do sistema de gestão e valorização de resíduos de produtos fitofarmacêuticos, para futura valorização energética ou eliminação. Encontra-se, igualmente, prevista a criação de centros de receção, vinculados aos sistemas de gestão licenciados, que se constituem como locais destinados à receção dos resíduos de embalagens ou de excedentes de produtos fitofarmacêuticos e que, no seu

conjunto, tenderão a formar uma rede nacional organizada segundo critérios de proximidade, suscetíveis de incentivar o encaminhamento daqueles resíduos para os sistemas de gestão. *(Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV))*

- **Portaria nº 758/2007 de 3 de julho**, que remete para a empresa detentora da autorização de venda ou de autorização de importação paralela do produto fitofarmacêutico, a responsabilidade pela recolha e gestão dos resíduos de embalagem de produtos fitofarmacêuticos com capacidade ou peso iguais ou superiores a 250 l ou 250 kg.

Esta portaria veio definir a quem compete a responsabilidade pela recolha dos resíduos de embalagens com capacidade ou peso iguais ou superiores a 250 l ou 250 kg, referidos na alínea b) do nº 1 do artigo 5.º do Decreto-Lei nº 187/2006 de 19 de setembro, atribuindo-a à empresa detentora da autorização de venda ou à empresa detentora de autorização de importação paralela, até que se verifique o licenciamento de entidades gestoras de resíduos de embalagens de produtos fitofarmacêuticos para a capacidade ou peso acima referidos. *(Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV))*

- **Decreto-Lei n.º 147/2008, de 29 de julho**, alterado pelo Decreto-Lei n.º 245/2009, de 22 de setembro, pelo Decreto-Lei n.º 29-A/2011, de 1 de março e pelo Decreto-Lei n.º 60/2012, de 14 de março, que estabelece o regime jurídico da responsabilidade por danos ambientais e transpõe para a ordem jurídica nacional a Diretiva n.º 2004/35/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de Abril de 2004, que aprovou, com base no princípio do poluidor-pagador, o regime relativo à responsabilidade ambiental aplicável à prevenção e reparação dos danos ambientais, com a alteração que lhe foi introduzida pela Diretiva n.º 2006/21/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de março de 2006, relativa à gestão de resíduos da indústria extrativa e pela Diretiva 2009/31/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Abril, relativa ao armazenamento geológico de dióxido de carbono.

Este decreto-lei aplica-se aos danos ambientais, bem como às ameaças iminentes desses danos, causadas por qualquer atividade ocupacional desenvolvida no âmbito de uma atividade económica, mesmo se causados por uma situação de contaminação de carácter difuso. O operador que causar dano ambiental ou uma ameaça iminente de dano ambiental está obrigado a adotar de imediato as medidas necessárias e adequadas à prevenção e reparação desses danos ou ameaças. Entre as atividades ocupacionais abrangidas por esta

legislação, consta a utilização de produtos fitofarmacêuticos (alínea c) do n.º 7 do Anexo III).
(*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

Estabelecimento de Limites Máximos de Resíduos (LMR) e seu controlo

- **Regulamento (CE) n.º 178/2002, de 28 de janeiro**, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece os procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.
- **Regulamento (CE) n.º 882/2004, de 29 de abril**, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e bem-estar dos animais.
- **Regulamento (CE) n.º 396/2005, de 23 de fevereiro**, relativo aos limites máximos de resíduos de produtos fitofarmacêuticos no interior e à superfície dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais, de origem vegetal ou animal, e que altera a Diretiva 91/414/CEE do Conselho.
- **Regulamento (CE) n.º 669/2009, de 24 de julho**, que dá execução ao Regulamento (CE) n.º 882/2004, no que respeita aos controlos oficiais reforçados na importação de certos alimentos para animais e géneros alimentícios de origem não animal e que altera a Decisão 2006/504/CE
- **Regulamento (UE) n.º 1277/2011, de 08 de dezembro**, que substitui o anexo I do Regulamento 669/2009, que dá execução ao Regulamento (CE) n.º 882/2004, no que respeita aos controlos oficiais reforçados na importação de certos alimentos para animais e géneros alimentícios de origem não animal.
- **Decreto-Lei n.º 144/2003, de 02 de julho (revogado, exceto artigos 10.º e 11.º)**, que estabelece o regime dos limites máximos de resíduos de produtos fitofarmacêuticos permitidos nos produtos agrícolas de origem vegetal destinados à alimentação humana ou, ainda que ocasionalmente, à alimentação animal, a seguir designados por produtos agrícolas, bem como nos mesmos produtos agrícolas secados ou transformados, ou ainda depois de incorporados em alimentos compostos, na medida em que possam conter resíduos de produtos fitofarmacêuticos.
- **Decreto-Lei n.º 39/2009, de 10 de fevereiro**, que assegura a execução e garante o cumprimento, na ordem jurídica interna, das obrigações decorrentes do Regulamento (CE) n.º 396/2005.

Em particular, o Regulamento (CE) n.º 396/2005 cria o regime de estabelecimento de Limites Máximos de Resíduos (LMR) de produtos fitofarmacêuticos em géneros alimentícios e alimentos para animais harmonizados a nível europeu e institui os procedimentos para o seu controlo. Trata-se da ferramenta legal base para a definição dos LMR que constituem uma referência que, não sendo ultrapassada, atesta a segurança alimentar e permite a livre circulação no mercado europeu de produtos vegetais tratados com produtos fitofarmacêuticos. O estabelecimento dos LMR, não tem somente uma componente de segurança alimentar, mas tem, igualmente, uma função de controlo da utilização de produtos fitofarmacêuticos nas culturas. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

O Regulamento (CE) n.º 396/2005 estabelece, ainda, a obrigatoriedade de os Estados-Membros definirem os seus programas nacionais plurianuais de controlo de resíduos de pesticidas em produtos de origem vegetal e de apresentarem os respetivos resultados à Comissão Europeia, à Autoridade Europeia da Segurança Alimentar e aos outros Estados-Membros. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

O principal objetivo é o da avaliação da exposição dos consumidores nacionais e europeus aos resíduos de pesticidas nos produtos agrícolas de origem vegetal destinados à alimentação humana, através da seleção apropriada dos mesmos e dos pesticidas, segundo um plano de amostragem representativa e exequível atendendo às capacidades instaladas nos laboratórios de análise de resíduos de pesticidas. Adicionalmente, procura garantir o cumprimento por parte dos operadores da cadeia alimentar da legislação nacional e comunitária relativa aos resíduos de pesticidas em produtos agrícolas de origem vegetal, destinados à alimentação humana. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

- **Decreto-Lei n.º 53/2008, de 25 de março**, que transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva n.º 2006/125/CE, da Comissão, de 05 de dezembro, e estabelece o regime jurídico aplicável aos géneros alimentícios para utilização nutricional especial que satisfaçam os requisitos específicos relativos aos lactentes e crianças de pouca idade saudáveis e destinados a lactentes em fase de desmame e a crianças de pouca idade em suplemento das suas dietas e ou adaptação progressiva à alimentação normal.
- **Decreto-Lei n.º 217/2008, de 11 de novembro**, que transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva n.º 2006/141/CE, da Comissão, de 22 de dezembro, na parte relativa às fórmulas para lactentes e fórmulas de transição, estabelece o respetivo regime

jurídico e revoga os Decretos-Leis n.º 220/99, de 16 de junho, 286/2000, de 10 de novembro, e 138/2004, de 5 de junho.

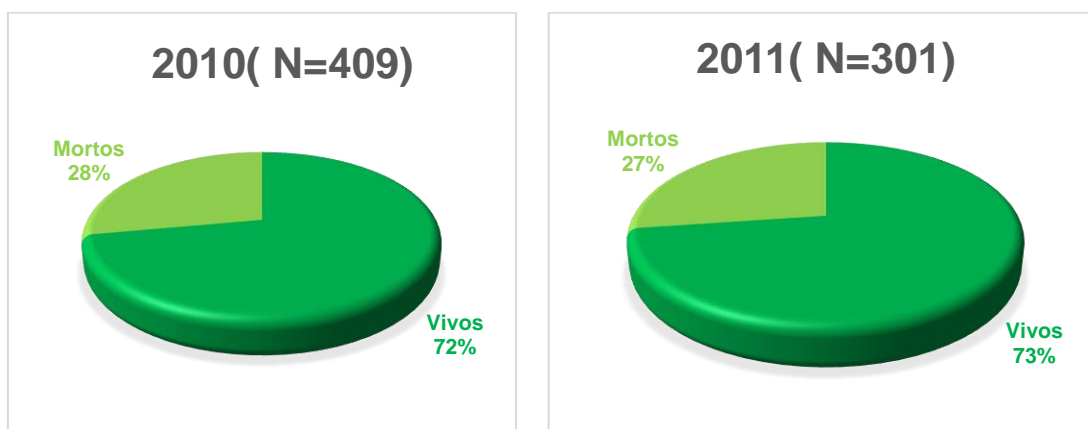
Os Decretos-Lei n.º 53/2008 e 217/2008 estabelecem um limite transversal de resíduos de cada pesticida em específico de 0,01mg/kg de produto pronto para consumo ou reconstituído de acordo com as instruções do fabricante, respetivamente para os alimentos à base de cereais e os alimentos para bebés e para fórmulas para lactentes e fórmulas de transição, estipulando, contudo, exceções a este limite. Determinam ainda a proibição do uso de alguns pesticidas nos produtos agrícolas destinados àquelas fórmulas, estipulando a redução do referido limite para 0,003mg/kg. (*Plano de ação nacional para o uso sustentável dos produtos fitofarmacêuticos 2011 (DGAV)*)

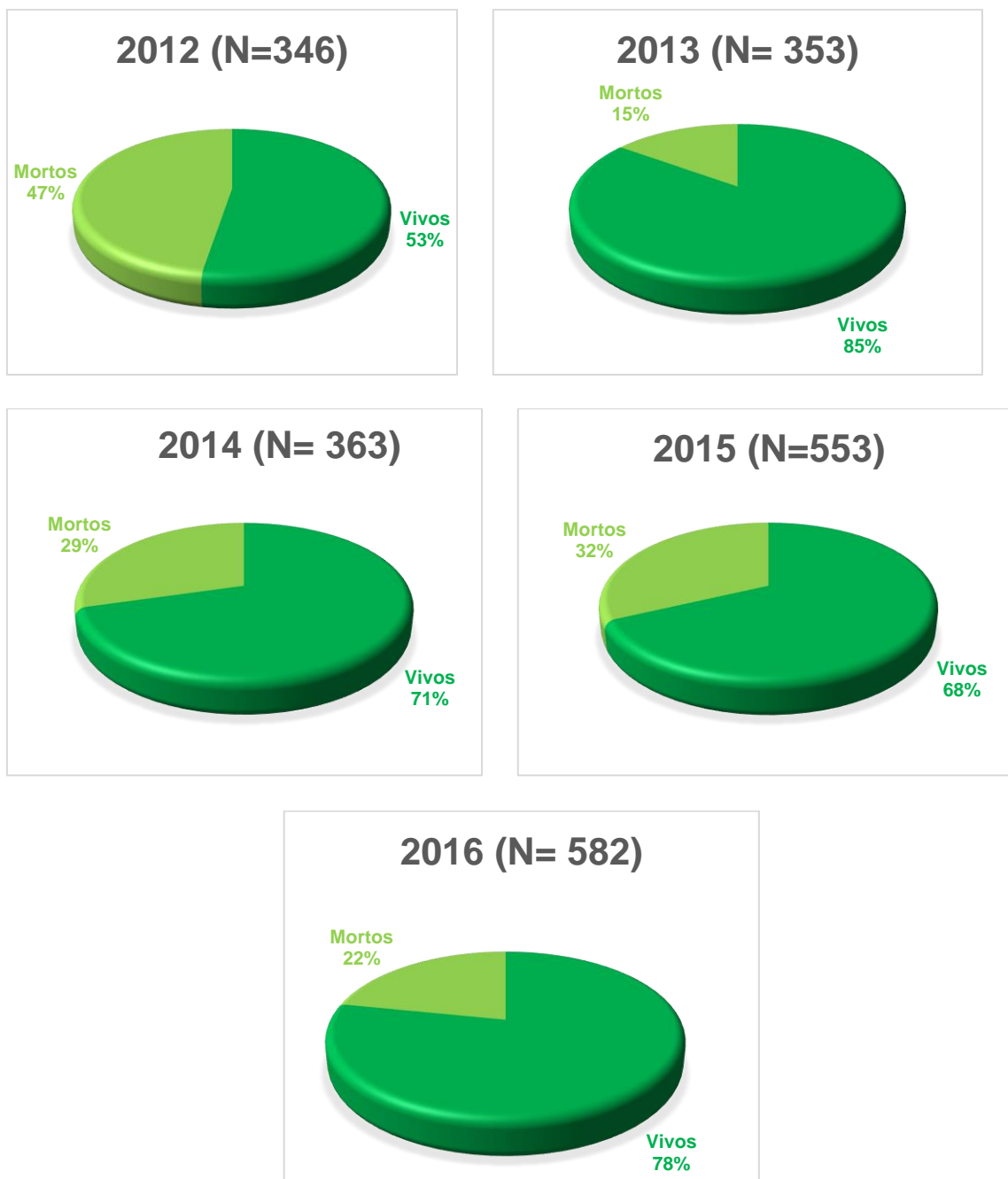
Conservação da biodiversidade

- **Decreto-Lei nº 140/99, republicado pelo Decreto-Lei nº 49/2005**, que transpõe para o direito interno a Diretiva nº 79/409/CEE, relativa à conservação das aves selvagens e a Diretiva nº 92/43/CEE, relativa à preservação dos habitats naturais e da fauna e flora selvagens.
- **Decreto-Lei nº 142/2008**, que estabelece o regime jurídico da conservação da natureza e da biodiversidade.

Apêndice 1: Informações extra sobre os animais estudados

Das entradas verificadas por ano no CERVAS, apenas uma percentagem entrou viva, seguidamente apresenta-se o gráfico com as percentagens de 2010-2015 de animais vivos à entrada (Gráficos 5 a 11).





Gráficos 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11: Percentagem de animais que entraram vivos e mortos por ano de estudo

Em relação aos animais estudados, foi feita uma estatística de acordo com o local de origem, causa de ingresso, o que aconteceu ao animal e género. Esses gráficos vão ser apresentados seguidamente (Gráficos 12 a 16):

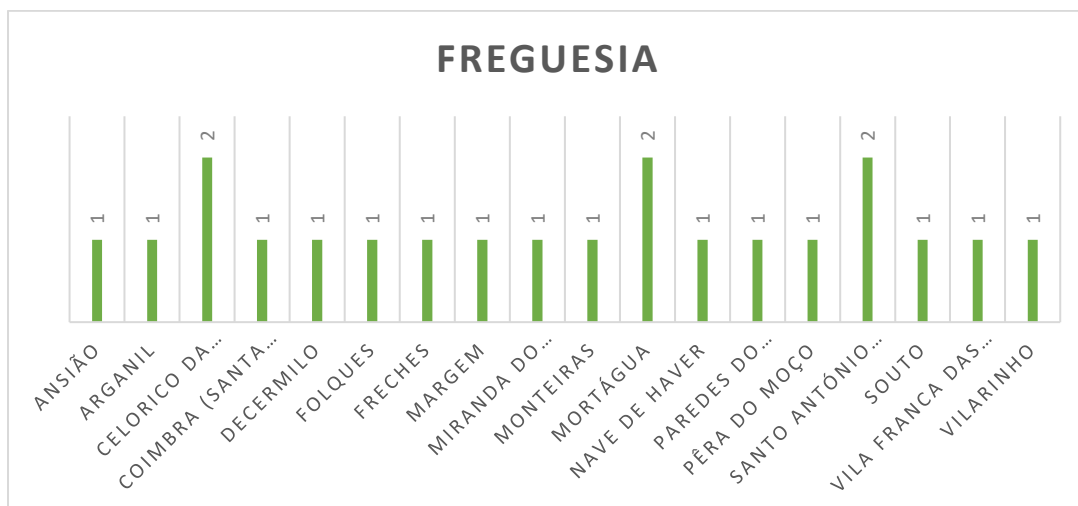


Gráfico 12: Freguesias de onde são oriundos os animais em estudo

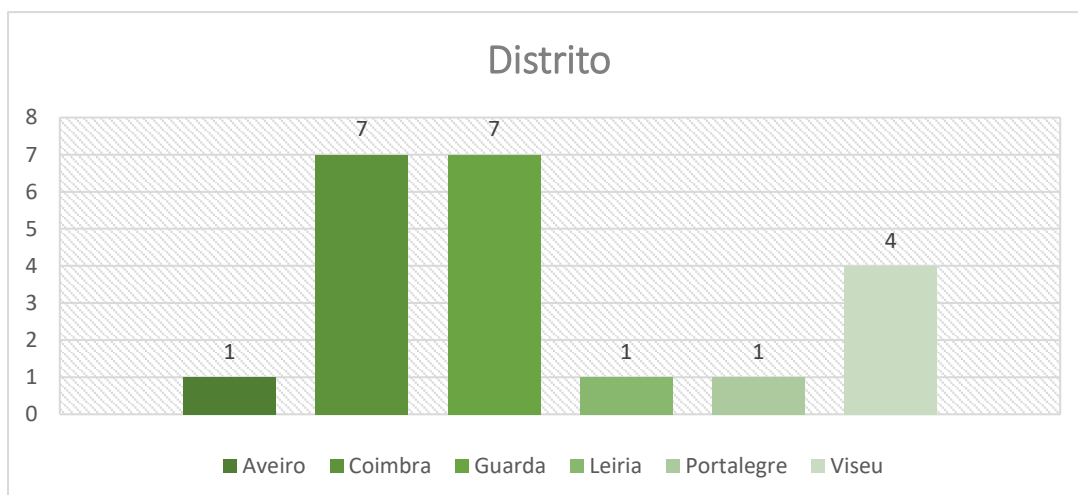


Gráfico 13: Distritos de onde são oriundos os animais em estudo

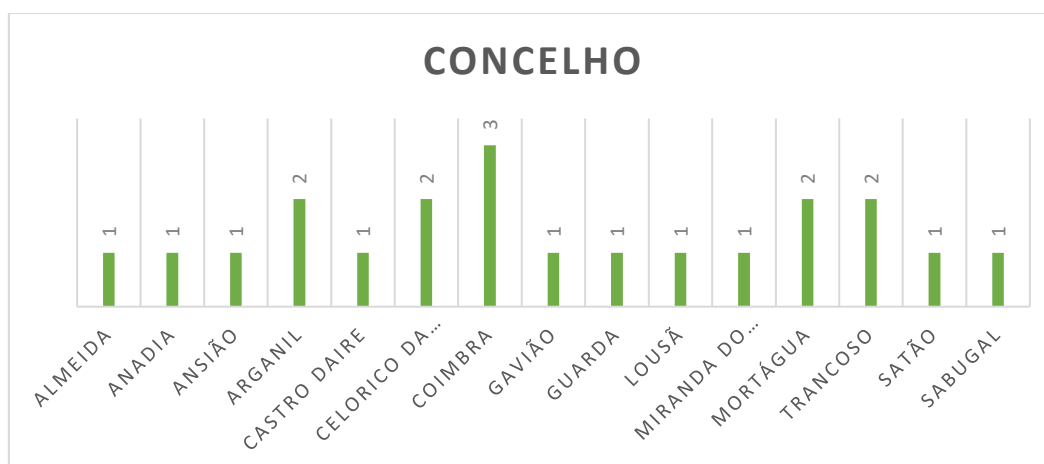
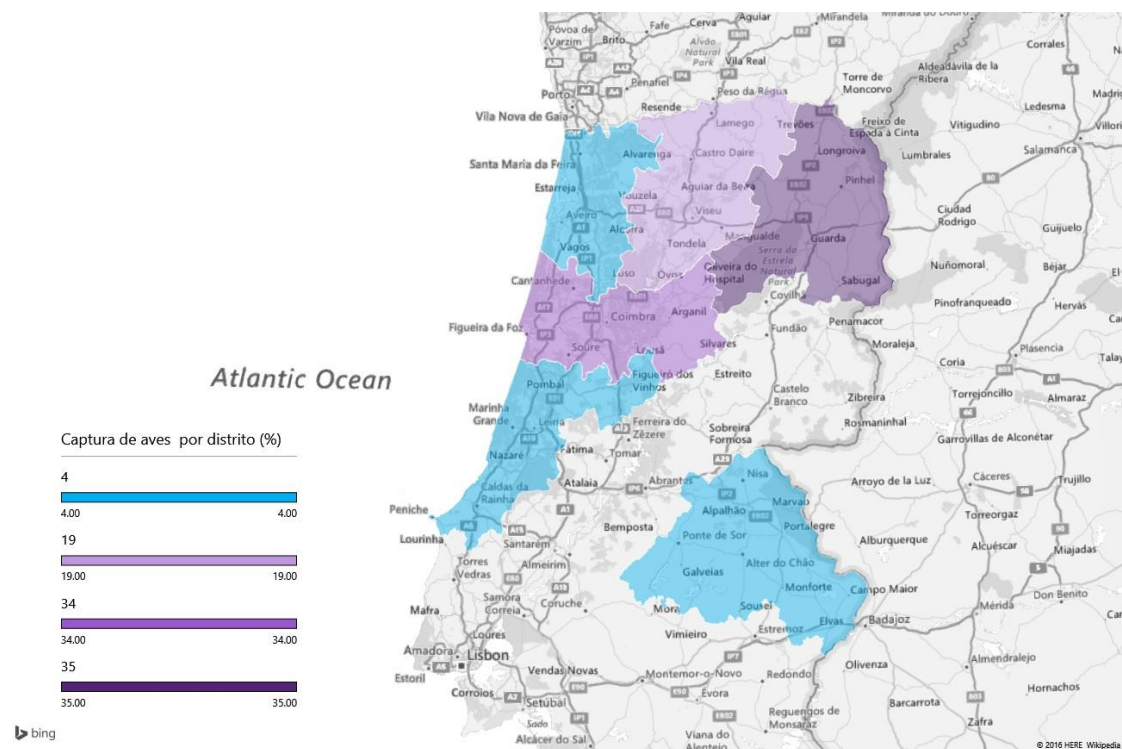
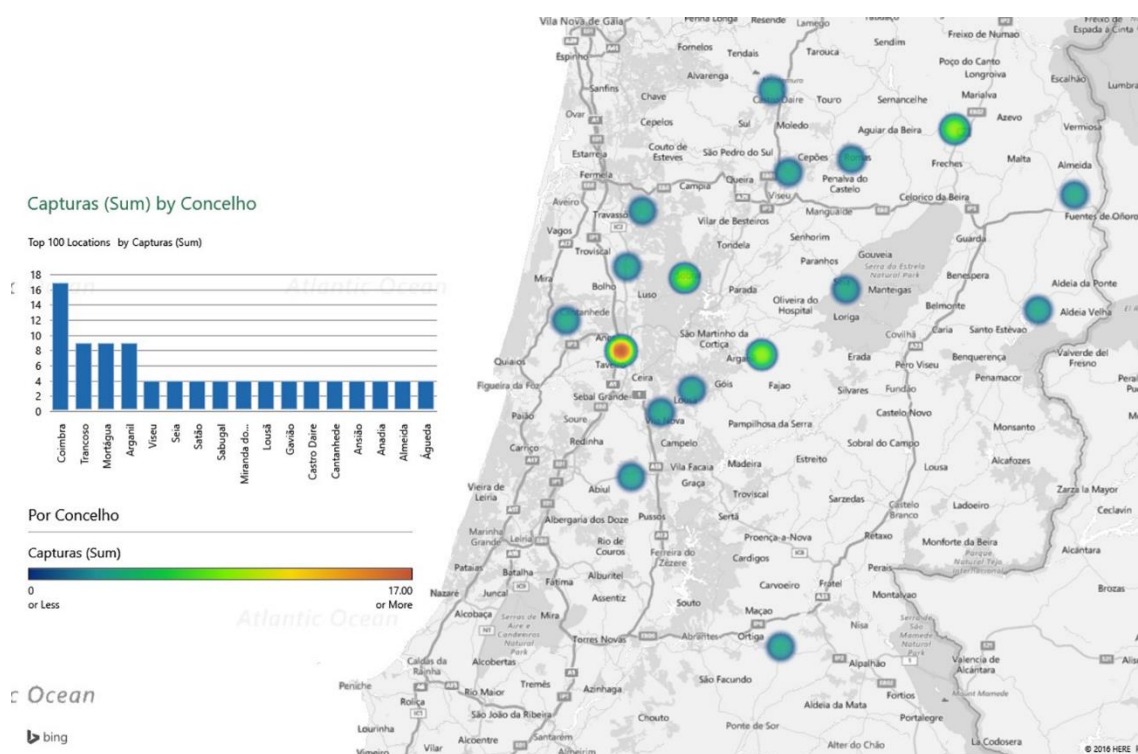


Gráfico 14: Concelhos de onde são oriundos os animais em estudo



Mapa 2: Distribuição dos animais estudados por concelho

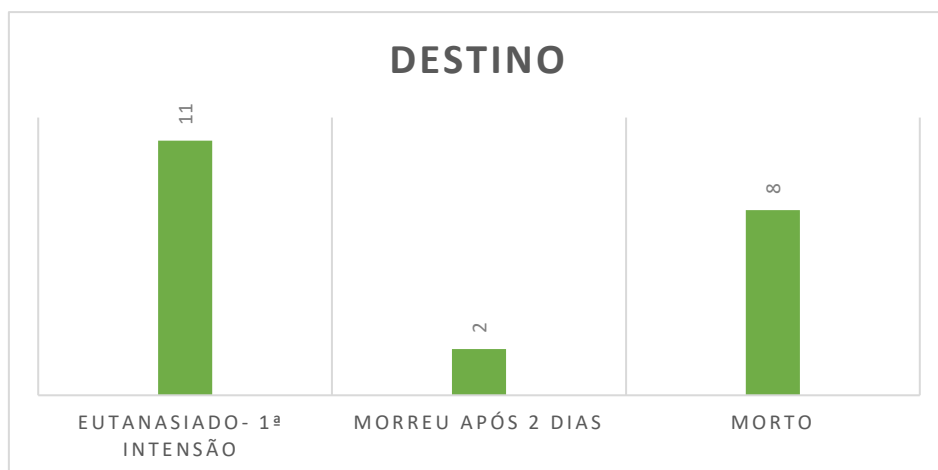


Gráfico 15: Destino dos animais em estudo

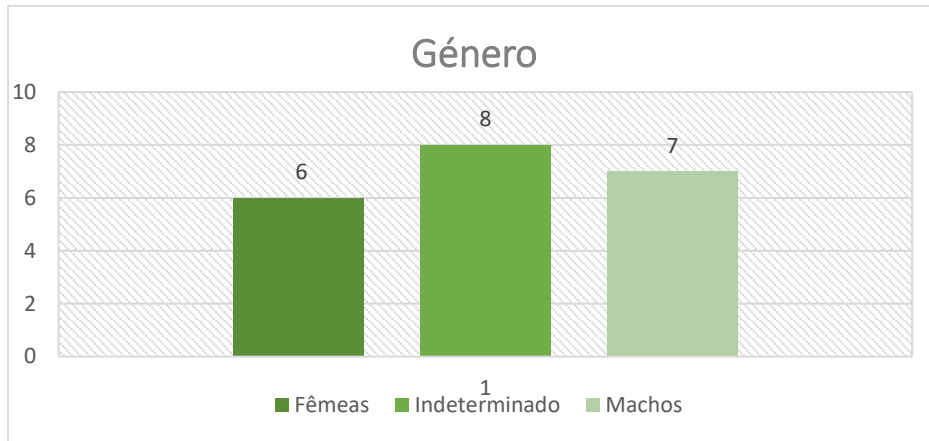


Gráfico 16: Géneros dos animais em estudo